Dr. ing. Christian Wirth.

Untersuchungen über die Bestimmung der diastatischen Kraft des Malzes und von Malzextrakten.

Untersuchungen über die Bestimmung der diastatischen Kraft des Malzes und von Malzextrakten.

Von der

K. Technischen Hochschule zu München

zur Erlangung der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften (Doktor-Ingenieurs) genehmigte Dissertation.

Vorgelegt von

CHRISTIAN WIRTH, Diplom-Ingenieur

aus Münchberg i. Ofr.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Referent:
Prof. Dr. Carl Lintner.

Korreferent:
Prof. Dr. Andreas Lipp.

Tag der mündlichen Prüfung: 14. März 1908.

MÜNCHEN 1908.

Druck von A. Fröhlich, München.

Vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. C. J. Lintner im gärungschem. Laboratorium der K. technischen Hochschule zu München ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. C. J. Lintner für das Wohlwollen und Interesse, welches er stets meinem Studium und auch vorliegender Arbeit entgegenbrachte, auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Meiner Mutter
und
dem Andenken meines Vaters
in
Liebe und Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555409_0028

Einleitung.

Durch eine umfassende Arbeit von Kjeldahl [1]) ist der Grund zur Bestimmung des Fermentativvermögens von diastasehaltigen Malzauszügen gelegt worden. Dieser Forscher erkannte richtig, dass jede Fermentativbestimmung von den folgenden vier Faktoren abhängig sein kann:

1) Von der angewandten Menge Malzauszug,
2) Von der Temperatur, bei welcher der Auszug wirkt,
3) Von der Dauer der Einwirkung,
4) Von der Konzentration der Stärkelösung.

Um den Einfluss eines dieser vier Faktoren kennen zu lernen, liess er denselben variieren, während die anderen drei konstant blieben.

Bei der Einwirkung verschiedener Malzauszugsmengen auf durch Malzauszug verflüssigten Stärkekleister mussten natürlich auch die gebildeten Zuckermengen wechseln. Durch Anstellung mehrerer Versuche konnte Kjeldahl eine gewisse Regelmässigkeit im Wachsen der Zuckermengen wahrnehmen, die ihrerseits wieder in geradem Verhältnis zu den Auszugsmengen standen. Auf Grund dieser Erfahrung stellte Kjeldahl [2]) das Proportionalitätsgesetz auf, das noch heute Giltigkeit besitzt. Dasselbe sagt aus: Das Verhältnis des Diastasegehaltes (Fermentativvermögen) zweier Malzauszüge kann durch das Reduktionsvermögen ausgedrückt werden, welches sie ausüben, wenn sie beide auf dasselbe Gewicht Stärke bei derselben Temperatur und während derselben Zeit einwirken, sobald das Reduktionsvermögen von 25—30 (auf Dextrose berechnet) nicht überschritten wird.

Unter Reduktionsvermögen versteht man die Menge Fehlingsche Lösung reduzierende Substanz (Maltose und Dextrin), berechnet als Dextrose, welche bei der Einwirkung der Diastase auf

[1]) Untersuchung über die zuckererzeugenden Fermente. M. J. Kjeldahl. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1880. S. 49 ff.

[2]) l. c. S. 85.

Stärke (in Prozente Stärketrockensubstanz) entstanden ist. Das Gesetz muss bei jeder Fermentativkraftbestimmung im Auge behalten werden, denn ein Ueberschreiten der Proportionalitätsgrenze führt, wie Kjeldahl an Versuchen zeigt, zu Trugschlüssen.

In seiner Abhandlung bedient er sich folgender Arbeitsweise:

Die Versuchsflüssigkeit wird bereitet, indem man 250 gr Stärke verkleistert, die Temperatur des Kleisters auf 80° bringt und denselben mit 200 ccm Malzauszug von 60—65° verflüssigt. Nachdem die Flüssigkeit 20 Minuten bei 78—80° gehalten wurde, wird zur Vernichtung der Diastase zum Sieden erhitzt. Man filtriert und verdünnt das Filtrat bis zu einer Konzentration von 3—4 Prozent.

In dieser Lösung wird nun der Zucker bestimmt. 100 oder 200 ccm der Flüssigkeit werden auf 60° gebracht, mit einer bestimmten Anzahl ccm Malzauszug (erhalten durch Digestion von 25 gr Malz mit 1 Liter Wasser während 6 Stunden) versetzt und in ein auf 57—59° C einstehendes Wasserbad gebracht. Nach 20 Minuten wird die Zuckerbildung durch Aufkochen sistiert, die verzuckerte Versuchsflüssigkeit auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und nun der entstandene Zucker bestimmt. Ausserdem ist noch eine Zuckerbestimmung in dem zu prüfenden Malzauszug auszuführen. Durch Abzug des Zuckers in der Stärkelösung und des im Malzauszug enthaltenen von dem Gesamtzucker erhält man den Zuckerzuwachs, welcher als Mass für die Wirkung der Diastase dient. Die gefundene Zahl wird nun auf Stärke umgerechnet Bei Kjeldahl besitzt ein Malz das Fermentativvermögen 100, wenn 15 ccm des Auszuges 1:40 in 200 ccm der Stärkelösung eine Zuckerzunahme (auf Dextrose berechnet) von 1 gr oder wenn 7,5 ccm Auszug in 100 ccm Versuchsflüssigkeit 0,5 gr Zuckerzuwachs geben.

Die Bereitung der Versuchsflüssigkeit und die drei Zuckerbestimmungen sind sehr zeitraubend, ausserdem stösst man beim Filtrieren der Stärkelösung mitunter auf Schwierigkeiten. Das Kjeldahl'sche Verfahren hat daher nur eine beschränkte Anwendung gefunden.

Erheblich einfacher und bequemer gestaltet sich die Bestimmung der Verzuckerungskraft nach C. J. Lintner (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 1885, S. 283 u. 1886, S 435).

Als Versuchsflüssigkeit dient nicht wie bei Kjeldahl durch Malzauszug verflüssigter Stärkekleister, sondern lösliche Stärke, welche aus feinster Kartoffelstärke hergestellt wird. Man erhält

sie, indem man auf Kartoffelstärke 7,5%ige Salzsäure 7 Tage einwirken lässt. Zur Beseitigung der Säure wird öfter dekantiert, dann filtriert und solange gewaschen bis keine saure Reaktion mehr wahrzunehmen ist. Die so präparierte Stärke löst sich in heissem Wasser zu einer schwach opalisierenden Flüssigkeit.

Bei der Ausführung der Bestimmung gibt man in 10 Reagiercylinder, die sich in einem Reischauer'schen Stern befinden, je 10 ccm 2%ige Stärkelösung und beginnt bei Röhrchen 1 mit Zugabe von 0,1 ccm klar filtrierten Auszuges, (derselbe wird bereitet, indem man 25 gr Malz mit 500 ccm destilliertem Wasser während sechs Stunden extrahiert), bei Röhrchen 2 mit 0,2 ccm und so fort bis Röhrchen 10, das mit 1,0 ccm Auszug versetzt wird. Nach einstündigem Stehen bei 17,5° C wird der Versuch durch Zugabe von 5 ccm Fehling'scher Lösung in jedes Röhrchen unterbrochen, letztere gut geschüttelt und der Stern mit Röhrchen 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt.

Ist die Flüssigkeit in einem Röhrchen noch blau, in dem folgenden bereits gelb, so liegt der gesuchte Punkt zwischen diesen beiden.

Die Berechnung erfolgt unter Zugrundelegung der Lintner'schen Einheit, nach welcher ein Malz das Fermentativvermögen 100 besitzt, wenn 0,1 ccm eines Auszuges 1:20 unter den beschriebenen Bedingungen 5 ccm Fehling'sche Lösung reduzieren.

Ergibt ein Versuch eine hohe diastatische Kraft eines Malzes, so empfiehlt C. J. Lintner denselben mit verdünnteren Auszügen zu wiederholen, um den gesuchten Punkt in ein höheres Röhrchen zu verlegen, weil dadurch der Versuchsfehler verringert wird.

Wenn auch in der Wiederholung des Versuches und den Fehlern der Ablesung der Methode Nachteile erwachsen, so werden dieselben durch die Vorteile in der praktischen und handlichen Arbeitsweise aufgewogen. Die Methode hat schnell Eingang in der Praxis gefunden und wird heute besonders in England zur Fermentativkraftbestimmung von Braumalz benützt.

Die Lintner'sche Methode hat Evans (Wochenschrift für Brauerei 1900, Bd. XVIII, S. 439, aus: Journal of the Federated Institutes of Brewing 1900) insofern umgeändert, als er nicht die Malzauszugsmengen, sondern die Mengen Fehling'scher Lösung variieren lässt. Nach Evans Angaben werden 100 ccm der Lintner'schen Stärkelösung mit 1 ccm Malzauszug 1:20 eine Stunde bei 21° C zerzuckert. Inzwischen werden in 10, in einem Reischauer'schen Stern befindlichen Röhrchen 0,5; 1,0; 1,5; etc.

ansteigende Mengen Fehling'scher Lösung gegeben und in jedes Röhrchen 10 ccm der verzuckerten Stärkelösung gebracht. Nach kräftigem Durchschütteln wird der Stern 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt und hierauf die Reduktion bestimmt. Das farblose Röhrchen ist das gesuchte.

Das Gläschen X enthält 10 ccm Stärkelösung, 0,1 ccm Auszug und 5 ccm Fehling'sche Lösung, es entspricht also dem Gläschen I bei Lintner.

Die diastatische Kraft wird berechnet, indem man die Gläschennummer mit 10 oder die Kubikcentimeter der Fehling'schen Lösung mit 20 multipliziert.

Die Methode hat den Vorzug, dass die Messfehler gegenüber der Lintner'schen Methode nicht so sehr ins Gewicht fallen, sie ist jedoch etwas umständlicher als die letztere.

Während in den beiden letzten Arbeiten eine bestimmte Verzuckerungsleistung gefordert wird, indem man das Röhrchen als das Gesuchte ansieht, das soviel Maltose enthält, dass eben 5 ccm Fehling'sche Lösung reduziert werden, wird in der Methode von J. S. Ford u. J. M. Guthrie (Journal of the Institute of Brewing 1905, Vol. XI, S. 206) die von 1 ccm Auszug in einer Stärkelösung während einer Stunde bei 40° erzeugte Maltosemenge gewichtsanalytisch bestimmt. Zur Bereitung des Malzauszuges werden 20,15 gr Malzmehl mit 500 ccm destilliertem Wasser in einer verkorkten Flasche 1 Stunde lang in einem Schüttelapparat bewegt. Der Auszug wird unfiltriert zur Bestimmung verwendet.

Ausführung des Versuches:

In ein 100 ccm-Messkölbchen gibt man 70 ccm Lintner'sche Stärkelösung, die 2 gr Trockensubstanz gelöst enthält. Die Lösung wird auf die Temperatur von 40° gebracht und mit 1 ccm des unfiltrierten Auszuges 1 Stunde verzuckert. Nach Ablauf dieser Zeit unterbricht man die Einwirkung der Diastase durch 1 ccm verdünnter Sodalösung (10 gr pro Liter), kühlt die Lösung ab und füllt auf 100 ccm auf. Der gebildete Zucker wird gewichtsanalytisch bestimmt.

Die diastatische Kraft wird in Graden Lintner ausgedrückt.

Zu dem Behufe wird das gefundene Kupferoxyd mit 79 multipliziert.

Ausserdem soll man auch nach den Angaben von Ford und Guthrie das Fermentativvermögen bei 21° C finden können unter Berücksichtigung des Umstandes, dass bei 40° C 2,75 mal soviel Maltose gebildet wird als bei 21° C. Umgekehrt würde auch

ein Schluss vom gefundenen Fermentativvermögen bei gewöhnlicher Temperatur (21° C) auf das bei 40° C zulässig sein.

Die Berechnung erfolgt derart, dass man die bei einer Verzuckerungskraft 100 bei 21° C von 1 ccm Malzauszug gebildete Maltose zugrunde legt und mit dem Faktor multipliziert. Bei Fr* = 100 ist die von 1 ccm Auszug 1 : 20 gebildete Maltosemenge 0,4 gr; bei 40° würde dies 1,10 gr Maltose entsprechen. Da aber 20,15 gr Malz zum Auszug verwendet wurden, ist bei 40° C F = 100, wenn $\frac{1{,}10}{5} \cdot 4 = 0{,}88$ gr Maltose gebildet werden.

Nach zahlreichen Versuchen in der vorliegenden Arbeit ist man zu dieser Annahme nicht berechtigt, da die bei 21° und 40° von verschiedenen Malzen gebildeten Maltosemengen sich nicht entsprechen. Der Grund liegt in den, die Diastasewirkung bei höherer Temperatur, also auch bei 40°, begünstigenden Nebenbestandteilen, deren Anwesenheit mit den verschiedenen Malzen wechselt.

Effront (Die Diastasen und ihre Rolle in der Praxis. Deutsche Uebersetzung von Max Bücheler, Leipzig und Wien 1900, S. 211) gibt folgende Methode zur Bestimmung der diastatischen Kraft an:

Zur Bereitung des Malzauszuges werden 6 gr gequetschtes Malz mit 100 ccm Wasser von 60° C versetzt und dieselben während 1 Stunde bei 60° C. gehalten. Nach dieser Zeit kühlt man auf 30° C herunter, filtrirt und verdünnt das Filtrat mit dem gleichen Volumen Wasser.

Als Versuchsflüssigkeit dient eine Auflösung von 2 gr Typstärke in 100 ccm Wasser.

Versuchsanstellung. 100 ccm 2%ige Stärkelösung verdünnt man mit 35 ccm H_2O, fügt 5 ccm Malzinfus hinzu und bringt die Flüssigkeit in ein auf 60° C einstehendes Wasserbad. Nach vollendeter Verzuckerung wird abgekühlt und sofort der Zucker bestimmt. Die zur Reduktion von 2 ccm Fehling'scher Lösung nötigen Kubikcentimeter Zuckerlösung bilden das Mass für die diastatische Wirksamkeit eines Malzes.

6—8 ccm der Flüssigkeit entsprechen einem guten Malze, 9—12 ccm einem mittleren und 14—20 ccm einem schlechten Malze.

Die Typstärke stellt Effront aus Kartoffelstärke her, indem er diese mit 7%iger Salzsäure bei 40° behandelt und alle 6 Stunden schüttelt. Nach 3tägigem Stehen wird dekantiert, gewaschen bis zur neutralen Reaktion und dann bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet.

* Index r bedeutet Verzuckerungsvermögen.

Neben der Umständlichkeit des Verfahrens erregt die Bereitung des Malzauszuges Bedenken, da die Temperatur von 60° C bereits schwächend auf die Diastase einwirkt.

Der präexistierende Zucker des Auszuges scheint gar nicht berücksichtigt zu sein, der Endpunkt der Reaktion bei der Reduktion von 2 ccm Fehling'scher Lösung kann nicht scharf beobachtet werden.

Pollak (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 1903, S. 333) verwendet als Versuchsflüssigkeit einen 3%igen Stärkekleister, den er herstellt, indem er 9 gr fein zerriebene Arrowroot-Stärke mit wenig Wasser anrührt und in 250 ccm kochendes Wasser fliessen lässt. Nach ½ stündigem Stehen des Gefässes in einem kochenden Wasserbad wird der Stärkekleister in ein Kölbchen von 300 ccm Inhalt gegeben und auf die Marke aufgefüllt. Der zu untersuchende Malzauszug wird hergestellt, indem man 25 gr Feinmehl mit 250 ccm Wasser bei 40° ½ Stunde lang maischt, die Maische filtriert und das Filtrat noch 1 : 5 verdünnt.

Die Bestimmung zerfällt in einen Vor- und einen Hauptversuch und eine Maltosebestimmung.

Im Vorversuch gibt man zu 50 ccm Stärkekleister, der auf 40° gebracht worden ist, 10 ccm des verdünnten Auszuges 1 : 5, mischt gut durch, notiert die Zeit und hält die Lösung konstant bei 37—38° C. Nach der Verflüssigung des Kleisters beginnt man mit der Jodprobe (Tüpfelprobe) und setzt dieselbe solange fort bis mit Jod keine braune Färbung mehr entsteht. Die Zeit, die von Beginn des Versuches bis zum Verschwinden der Jodreaktion verstrichen ist, in Minuten ausgedrückt und durch 5 dividiert gibt die nötigen ccm Malzinfus, die zum Hauptversuch zu verwenden sind.

Im Hauptversuch werden nun 250 ccm Kleister, die auf die Temperatur von 39—40° gebracht wurden, mit der berechneten Menge Infus versetzt und bei 37,5° C während 30 Minuten verzuckert.

Nach Ablauf dieser Zeit unterbricht man die Reaktion durch Zufügen von 3 ccm 10%iger Kalilauge, kühlt auf gewöhnliche Temperatur ab und füllt auf 300 ccm auf. In der verzuckerten Lösung wird nun eine titriemetrische Zuckerbestimmung mit Fehlingscher Lösung ausgeführt, indem man zu 50 ccm derselben die Zuckerlösung aus einer Bürette zulaufen lässt bis eben Entfärbung eingetreten ist.

So kann man die in 300 ccm enthaltene Maltose berechnen.

Die gefundenen Werte werden für ein Gramm Malztrockensubstanz ausgedrückt. Die Methode ist umständlich, gibt aber nach Angaben des Verfassers gute Resultate und gestattet zugleich einen Einblick in das Verflüssigungsvermögen des zu untersuchenden Malzes.

In England führt man heute nach einem von „The Malt Analysis Committee to the council of the Institute of Brewing (Journal of the Institute of Brewing 1906, Vol. XII S 2) ausgearbeiteten Verfahren die Fermentativkraftbestimmung aus (Methode der Brauereichemiker).

Nach deren Angaben wirken auf 100 ccm 2%iger löslicher Stärke, die sich in einem 200er Kölbchen befinden, 3 ccm Auszug (durch Extraktion von 25 gr Malzmehl mit 500 ccm Wasser bei 21° C während dreistündigem Stehen erhalten) 1 Stunde bei 21° C. Nach Ablauf dieser Zeit wird der Versuch durch Zugabe von 10 ccm $\frac{n}{10}$ Natronlauge unterbrochen, der Inhalt der Kölbchen auf die Marke aufgefüllt und nun die Zuckerbestimmung ausgeführt. Zu 5 ccm Fehling'scher Lösung wird aus einer Bürette die verzuckerte Stärkelösung zulaufen lassen.

Das Ende der Reaktion erkennt man durch Tüpfeln mit einer salzsauren Lösung von Eisenammoniumrhodanür. Spuren von Kupfer erzeugen noch eine intensive, rote Färbung. Die gefundenen Kubikcentimeter Zuckerlösung geben in folgende Formel eingesetzt das Fermentativvermögen:

$$A = \frac{1000}{X \cdot Y},$$

wobei A = Fermentativvermögen, X = Kubikcentimeter Malzauszug, Y = ccm verzuckerte Stärkelösung, die 5 ccm Fehlingsche Lösung reduzieren.

Während man bei den bis jetzt angeführten Methoden in den Grenzen des Proportionalitätsgesetzes arbeitet, führt Kleemann (Untersuchungen über Malzdiastase; Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen 1906, Bd. 63, S. 93, Berlin 1905) eine Methode an, bei der er das Proportionalitätsgesetz absichtlich überschreitet.

Nach diesem Verfahren gibt man in 12 Reagensgläser aus Jenaer Glas je 10 ccm Stärkelösung, die 2 gr Trockensubstanz von Lintners löslicher Stärke in 100 ccm Wasser gelöst enthält, setzt bei Darrmalz 2,8; 3,0; 3,2; etc. Auszug 1:200, bei Grünmalz 1,0; 1,1; 1,2; etc. Auszug 1:200 zu, füllt zur Marke 15 ccm auf und lässt in einem auf 55° konstant einstehendes Wasserbad die Verzuckerung 3 Stunden vor sich gehen. Hierauf werden in

jedes Röhrchen 20 ccm Fehling'sche Lösung gegeben, gut durchgeschüttelt und die Röhrchen mit Halter zehn Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt. Der Inhalt der farblosen Röhrchen wird filtriert und das Filtrat mit Kaliumferrocyanid und Essigsäure auf Kupfer geprüft. Das erste Röhrchen, das keinen braunen Niederschlag mehr gibt, ist das Gesuchte.

Die Kubikcentimeter Auszug, die die gewünschte Maltosemenge erzeugten, geben, in die folgende Formel eingesetzt, das Fermantativvermögen nach Kleemann:

$$F.M = \frac{100}{2{,}5 \cdot \text{Anzahl der verbrauchten ccm Auszug } 1:200}$$

Es besagt, wie viel Teile wasserfreier, löslicher Stärke in 2 prozentiger Lösung innerhalb 3 Stunden bei 55° C durch 1 Teil Malztrockensubstanz eine Verzuckerungsleistung von 77,5 Prozent Maltose geben.

Wenn man auch von der nicht einfachen Arbeitsweise absehen würde, so könnte die Methode bei den folgenden Versuchen nicht angewendet werden, da alle Arbeiten unter Berücksichtigung des Proportionalitätsgesetzes durchgeführt sind.

Nach den im zweiten Teil der Arbeit gewonnenen Erfahrungen ist die lange Einwirkungsdauer, die hohe Temperatur und das Arbeiten mit so verdünnten Auszugsmengen bei diesen Temperaturen nachteilig auf die Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit.

Die bis jetzt beschriebenen Methoden zur Ermittlung des Fermentativvermögens gründen sich auf die Bestimmung der durch die Diastase im Auszug gebildeten Maltosemengen.

Kjeldahl drückt diese Maltose als Reduktionsvermögen aus, Lintner und Evans beziehen die Wirkung auf die von der gebildeten Maltose reduzierten 5 ccm Fehling'scher Lösung. Ford und Guthrie bestimmen die gebildete Maltose gewichtsanalytisch und rechnen sie dann auf Fermantativvermögen Lintner um. In Effronts Verfahren sind die ccm Zuckerlösung für die Güte eines Malzauszuges massgebend, die 2 ccm Fehling'sche Lösung reduzieren. Pollak drückt die diastatische Kraft eines Malzes aus, indem er die durch gewisse Auszugsmengen gebildeten Zucker für den Auszug, der 1 gr Malz entspricht, berechnet. Kleemann verlangt in seiner Methode eine Maltosemenge, die imstande ist 20 ccm Fehlingsche Lösung zu reduzieren.

Neben den Reduktionsmethoden war man auch bestrebt die diastatische Kraft durch den Verlauf der Jodreaktion zu messen. Die durch den Abbau der Stärke durch Diastase entstandenen Produkte, die mit Jod je nach dem Fortschreiten der Reaktion charakteristische Färbungen ergeben, sollten als markante Punkte für die Bestimmung des Fermantativvermögens dienen. Man glaubte in den verschiedenen Zeiten, die zwei Extrakte zum Abbau der gleichen Menge Stärkelösung bei bestimmter Temperatur bis zum Eintreten der gewünschten Jodreaktion brauchten, einen Massstab für die Bestimmung der diastatischen Kraft zu besitzen. Die verstrichenen Zeiten standen nicht in proportionalem Verhältnis zu den Diastasemengen und so versprachen Versuche in dieser Richtung keinen Erfolg.

Nach Kleemanns Jodmethode (Untersuchungen über Malzdiastasen; Landwirtschaftliche Versuchsstationen 1906, Bd. 63, S. 93) für die Fermentativkraftbestimmung arbeitet man in einer 2prozentigen Stärkelösung mit verschiedenen Auszugsmengen bei 3stündiger Einwirkung bei 55° auf das Verschwinden der Jodreaktion hin. Der Versuch wird folgendermassen ausgeführt:

In 10 Reagensgläser von Jenaer Glas, die bei 15 ccm markiert sind, werden je 10 ccm Lintners lösliche Stärke, welche in 100 ccm 2 gr wasserfreie Kartoffelstärke gelöst enthalten, gegeben. Die Röhrchen werden der Reihe nach mit aufsteigenden Mengen Malzauszug, die nach der Art des Malzes wechseln, beschickt. Bei Darrmalz betragen dieselben 1,0; 1,2; 1,4; etc. Auszug 1:200; bei Grünmalz 0,4; 0,5; etc. Auszug 1:200.

Der zur diastatischen Kraftbestimmung verwandte Auszug wird durch Extraktion von 10 gr frei gemahlenem Darrmalz oder bei Bereitung eines Grünmalzauszuges durch Zerreiben von 10 gr Grünmalz, mit 500 ccm Wasser $1^1/_2$ Stunden bei 35° C oder 6 Stunden bei 17,5° C unter öfterem Umschütteln hergestellt.

Nach Zugabe des Malzinfuses werden die Röhrchen mit destilliertem Wasser bis zur Marke 15 aufgefüllt, gut durchgeschüttelt, in den Reischauer'schen Stern zurückgestellt und der letztere in ein bei 55° eingestelltes Wasserbad gebracht. Nach Verlauf von 3 Stunden kühlt man die Röhrchen ab, bringt aus jedem derselben je 5 ccm der verzuckerten Stärkelösung in 10 entsprechende 250er Medizinflaschen die mit 200 ccm Wasser gefüllt sind. Ein 11. Gläschen dient als Kontrolle. In jedes der Gläschen werden 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ Jodlösung gegeben und gut durchge-

schüttelt. Dasjenige Fläschchen, das denselben Farbenton besitzt wie 11 ist das Gesuchte.

$$\text{Fermentativvermögen Jod} = \frac{100}{\text{ccm Malzauszug } 1:200 \cdot 2{,}5}.$$

Dasselbe drückt aus, wieviele Teile wasserfreier, löslicher Stärke in 2prozentiger Lösung bei 55° innerhalb 3 Stunden durch einen Teil Malztrockensubstanz soweit verzuckert werden, dass sich die Lösung mit Jod nicht mehr färbt.

Gegen diese Methode sind dieselben Bedenken zu äussern, wie sie bei der Reduktionsmethode nach Kleemann existieren. Ausserdem entspricht dem achromatischen Punkt keine bestimmte Maltosemenge. In der Ausführung des Versuches ist die Jodprobe etwas umständlich, das Abmessen von 200 ccm H_2O in 12 Fläschchen, die Entnahme von je 5 ccm Zuckerlösung aus den 10 Röhrchen des Sternes, die Zugabe von je 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ Jodlösung und das Ablesen mühsam. Das Ablesen der gewünschten Färbung beansprucht ein geübtes Auge, da der Farbenton bei den letzten Gläsern sehr allmählich abnimmt.

Aus vorstehender Uebersicht ergibt sich eine ziemlich grosse Mannigfaltigkeit der Methoden zur Bestimmung der diastatischen Kraft.

Schon in der Bereitung des Auszuges gehen die Meinungen auseinander. Kjeldahl und Lintner schlagen eine 6stündige Extraktion bei gewöhnlicher Temperatur vor, Ford und Guthrie verkürzen die Einwirkungsdauer auf 3 Stunden, Effront stellt den Auszug zur Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit bei 60° während einstündiger Einwirkung her.

Ebenso verhält es sich mit den Versuchsflüssigkeiten. Pollak verwendet Stärkekleister, Kjeldahl einen durch Malzauszug verflüssigten Stärkekleister, in den anderen Methoden wird mit Lintners löslicher Stärke von verschiedener Konzentration gearbeitet. Lintner benützt eine Lösung von 2 gr lufttrockener Stärke in 100 ccm, Evans eine solche von 1 gr wasserfreier Stärke in 75 ccm, Ford und Guthrie eine Auflösung von 2 gr trockener Stärke in 70 ccm Wasser, in der Methode der englischen Brauereichemiker und den Kleemann'schen Methoden wird mit 2prozentiger Lösung, wasserfreier Stärke gearbeitet, Effront verwendet eine Versuchsflüssigkeit, die 2 gr lufttrockene Stärke in 135 ccm H_2O gelöst enthält.

Die Ausführung der Methoden ist eine sehr verschiedenartige.

Was die Temperatur bei den einzelnen Versuchen anbetrifft, so arbeitet Lintner bei 17,5—20°, Evans und die englischen Brauereichemiker bei 21°, Pollak bei 37,5°, Ford und Guthrie bei 40°, Kleemann bei 55°, Kjeldahl bei 57—59° und Effront bei 60° C.

Die Einwirkungsdauer ist bei Kjeldahl 20 Minuten, bei Pollak 30 Minuten, bei Lintner, Evans, Ford und Guthrie und bei der Methode der englischen Brauereichemiker eine Stunde, bei Kleemann 3 Stunden.

Ausserdem unterscheiden sich die meisten Methoden in der Berechnung des Wirkungswertes.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Grundlagen zur Bestimmung der diastatischen Kraft von neuem geprüft und der Versuch gemacht, ein Verfahren ausfindig zu machen, welches auf einfacherere und sicherere Art eine Bewertung des Malzes in Bezug auf seine diastatische Kraft zulässt als die bisherigen.

Neben dem Verzuckerungsvermögen eines Malzes spielt auch dessen Verflüssigungsvermögen eine grosse Rolle. Zur Bestimmung desselben existieren 3 Methoden, die Effront'sche (die Diastasen etc. l. c S. 214), diejenige von C J. Lintner und P. Sollied (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 1903, S. 329) und eine weitere von Alfred Pollak (Wochenschrift für Brauerei XX, 1903, S. 595).

In der Arbeitsweise unterscheiden sich die 3 Verfahren, indem die Verflüssigung mit verschiedenen Stärkekleistern und bei verschiedenen Temperaturen vorgenommen wird.

Es sollte nun die Methode von C. J. Lintner und P. Sollied zu weiteren Versuchen dienen, um das Verflüssigungs- und Verzuckerungsvermögen zu einem Verfahren zu vereinigen. Nach den Angaben dieser Forscher arbeitet man in Kürze folgendermassen:

Der Malzauszug wird durch 6stündige Extraktion von 25 gr mittelfein geschrotetem Malz mit 500 ccm destilliertem Wasser erhalten. Während dieser Zeit wird öfters geschüttelt und der durch Filtration erhaltene, klare Auszug zur Bestimmung des Verflüssigungsvermögens verwendet.

Als Versuchsflüssigkeit dient Kartoffelstärkekleister. 10 gr lufttrockene, feinste Kartoffelstärke werden in einer Reibschale mit wenig Wasser gut verrieben, in ein 100 ccm Kölbchen gebracht und bis zur Marke aufgefüllt. Mit einer Pipette von weiter Oeffnung werden je 10 ccm der in dem Kölbchen auf-

geschlemmten Stärke in 10 Reagenscylinder gegeben. Durch kräftiges Schütteln des Kölbchens gelingt es gut, in jedes Röhrchen dieselbe Menge aufgeschlemmte Stärke zu pipettieren. Aus einer entsprechend geteilten Bürette lässt man in Röhrchen I—X 0,1—1,0 ccm Malzauszug 1:20 zufliessen, schüttelt gut durch und verkleistert den Inhalt der Röhrchen nacheinander in einem kochenden Wasserbade. Es ist dafür Sorge zu tragen, dass die am Boden sitzende Stärke durch Schütteln des Gläschens in der Flüssigkeit gleichmässig verteilt wird, um einen Stärkekleister von gleicher Beschaffenheit zu erhalten. Bei 60° C beginnt die aufgeschlemmte Stärke zähflüssig zu werden, bei 65° C erstarrt sie zu Kleister und wird durchsichtig. Ist dieser Punkt erreicht, so muss das Gläschen sofort aus dem Wasserbade genommen und in den Reischauer'schen Stern zurückgestellt werden. Hierauf bringt man den Stern mit den Röhrchen in ein auf 65° C eingestelltes Wasserbad und lässt die Einwirkung 15 Minuten vor sich gehen. Zur Unterbrechung der Diastasewirkung wird der Stern 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt, hierauf auf 17,5° C abgekühlt und die Verflüssigung bestimmt. Je nach der Menge des Auszuges und der Grösse des Verflüssigungsvermögens werden die Inhalte der einzelnen Röhrchen eine verschiedene Verflüssigung erfahren haben, das Röhrchen, welches sich seines Inhalts durch Umkehren leicht entleert, ist das gesuchte.

Die Berechnung des Verflüssigungsvermögens ist ähnlich derjenigen der Verzuckerungskraft. Nach C. J. Lintner u. P. Sollied besitzt ein Malz das Verflüssigungsvermögen 100, wenn 0,1 ccm des Auszuges 1:20 unter den angeführten Bedingungen 10 ccm eines 10%igen Stärkekleisters in 15 Minuten verflüssigte.

Experimenteller Teil.

I.

Versuche, die Bestimmung des Verzuckerungs- mit der des Verflüssigungsvermögens zu kombinieren.

Durch eine kleine Abänderung des Verfahrens zur Bestimmung des Verflüssigungsvermögens nach Lintner sollte das Verzuckerungsvermögen mit bestimmt werden. Es wurde versucht, in jenen Röhrchen, bei denen die Verflüssigung vollendet war, die Reduktion zu bestimmen. Bei der Filtration des Kupferoxyduls durch einen Goochtiegel stellten sich Schwierigkeiten ein, indem das Filter sich verstopfte. Die Stärkelösung war zu dickflüssig.

Auch wurde versucht, das Verzuckerungsvermögen von einem Malze zu bestimmen, das nach Lintner das Verflüssigungsvermögen 33 hatte, indem eine Zuckerbestimmung mit Fehling'scher Lösung nach Kjeldahl im X. Röhrchen ausgeführt wurde. Auch dieser Versuch führte wegen der schlechten Filtration zu keinem Resultat. Bei Verwendung desselben Malzauszuges wurde der Versuch derart angestellt, dass nach einer Einwirkung von 15 Minuten die nicht dünnflüssigen Röhrchen aus dem Stern herausgenommen, der Reihe nach in einen 2. Halter gebracht und die Reaktion durch Aufkochen unterbrochen wurde. Nachdem auf gewöhnliche Temperatur abgekühlt war, floss der Inhalt des Röhrchens 3 leicht aus

$$F = \frac{100}{3} = 33{,}3$$

Die anderen Röhrchen, hier das VIII. IX. u. X. verblieben weitere 15 Minuten bei einer Temperatur von 65° C im Wasserbad. Nachdem durch Aufkochen die Diastase in der verzuckerten Stärkelösung zerstört worden war, sollte die gebildete Maltose im Röhrchen X bestimmt werden. Auch nach halbstündiger Einwirkungsdauer stellten sich der Filtration des Kupferoxyduls noch grosse Hindernisse in den Weg. Erst bei Einwirkung eines Malzauszuges auf einen 10%igen Stärkekleister unter denselben Bedingungen wie bei den vorhergehenden Versuchen aber einstündiger Wirkungsdauer konnte durch 1 ccm Auszug eine genügend verflüssigte und verzuckerte Lösung erhalten werden, in der der Zucker nach Kjeldahl bestimmt wurde.

Gleichzeitig sollte durch Anwendung verschiedener Auszugmengen geprüft werden, inwieweit das Kjeldahl'sche Proportionalgesetz bei Stärkekleister und der Temperatur von 65° Anwendung finden kann.

In 3 Röhrchen wurden je 10 ccm 10%ige, aufgeschlemmte Stärke gebracht, 1,0; 1,5 und 2 ccm Auszug zugegeben bei 65° C verkleistert und der Kleister während einer Stunde bei dieser Temperatur der Einwirkung unterzogen. Dann wurde die Wirkung der Diastase durch Aufkochen sistiert und der Zucker in den einzelnen Röhrchen nach Kjeldahl bestimmt. Ausserdem musste von dem Zucker der verzuckerten Stärkelösung noch der des Malzauszuges in Abrechnung gebracht werden. Die Bestimmung des Zuckers geschah derart, dass man 5 ccm Auszug 1:20 in ein Kjeldahlkölbchen mit 15 ccm Fehling'scher Lösung gab, auf 100 ccm auffüllte und im kochenden Wasserbad reduzierte.

Die Niederschläge von Kupferoxydul wurden auf mit Asbest präparierten Goochtiegel filtiert, mit Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschen, in Nickeltiegeln mit Porzellanscheibcheneinsatz oxydiert, abkühlen lassen und als Kupferoxyd gewogen. Letzteres wurde durch Multiplikation mit 0,799 auf Kupfer umgerechnet und die einzelnen Werte verglichen.

Ergebnis:

5	ccm	wässeriger	Auszug	gaben	0,09	gr CuO	=	0,0719 gr Cu
1	„	„	„	„	0,018	gr CuO	=	0,0144 gr Cu
1,5	„	„	„	„	0,027	gr CuO	=	0,0216 gr Cu
2,0	„	„	„	„	0,036	gr CuO	=	0,0288 gr Cu

Einwirkung verschiedener Auszugsmengen auf 10 ccm 10%igen Stärkekleister bei 65° C während 1 Stunde.

Malzauszug 1:20	1 ccm	1,5 ccm	2,0 ccm
Gesamtkupfer	CuO = 0,0905 gr = 0,0723 Cu	0,1578 gr CuO = 0,1261 gr Cu	0,2768 gr CuO = 0,2212 Cu
Kupfer durch Malzausz. reduz.	CuO = 0,09 gr = 0,0144 gr Cu	0,027 CuO = 0,0216 gr Cu	0,036 gr CuO = 0,0288 gr Cu
Kupfer, auf die Wirkung der Diastase zurückzuführen.	Cu = 0,0579 gr	Cu = 0,1045 gr	Cu = 0,1924 gr

Würde man für die obigen Werte von Kupfer die Maltosewerte einsetzen, so würden sich diese noch innerhalb der Proportionalitätsgrenze bewegen, es müsste also das Kjeldahl'sche Gesetz noch seine Giltigkeit haben. Die Versuche zeigen aber, dass dies nicht der Fall ist. So lieferte in einem Falle 1,0 ccm Malzauszug 1 : 20 0,0739 gr Cu und 2 ccm Auszug 0,1924 gr Cu, während nach dem Proportionalitätsgesetz nur 0,1158 gr Cu bei 2 ccm Auszug gefunden werden sollten.

Diese Abweichung ist jedenfalls darauf zurückzuführen, dass die Schwächung der Diastase, welche mit der Verkleisterung der Stärke bei 65° C, einer Temperatur, welche bereits jenseits des Temperaturoptimums liegt, eintritt, den angewandten Diastasemengen nicht proportional ist. Bei kleinen Mengen ist diese Schwächung verhältnismässig bedeutender als bei grossen Mengen.

Aus diesen Gründen ist die Temperatur von 65° C für den Versuch zur Bestimmung des Verzuckerungsvermögens eines Malzes zu hoch gewählt.

Weitere Versuche und zwar zunächst lediglich zur Bestimmung des Verzuckerungsvermögens wurden mit Kleister bei einer niedrigeren Temperatur ausgeführt.

II.

Versuche zur Bestimmung des Verzuckerungsvermögens unter Anwendung von Stärkekleister.

Für diese Versuchsreihe wurde eine Temperatur gewählt, welche dem Optimum nahe liegt, nämlich 57° C.

Es wurden Versuche mit 10%igem Stärkekleister ausgeführt. Die Temperatur von 57° schliesst bei dieser Konzentration die Anwendung von Kartoffelstärke aus, da der Stärkekleister zu zähflüssig ist. Wir verwendeten daher den leichter flüssigen Marantastärkekleister. Der Kleister wurde in verschiedener Weise bereitet, einmal wie bei den Verflüssigungsversuchen, — für jede Einwirkung gesondert -, dann nach den Angaben von v. Egloffstein (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 1903, S. 331.)

Der Malzauszug wurde durch 6stündige Digestion von 25 gr Malz mit 500 ccm Wasser erhalten

Versuchsreihe A.

Der Kleister wurde nach den Angaben von C. J. Lintner und Sollied (l. c.) bereitet.

10 gr reine, gut pulverisierte Marantastärke wurden mit wenig Wasser in einer Reibschale verrieben, in ein 100 ccm Kölbchen gespült und letzteres zur Marke aufgefüllt.

Mittels einer 10 ccm Pipette mit weiter Oeffnung wurden 10 ccm der aufgeschlemmten Stärke in ein 100 ccm Kölbchen gebracht und mit 25 ccm Wasser verdünnt Auf dieselbe Weise wurden noch einige Proben zum Versuch vorbereitet. Es gelingt gut, in jedes Kölbchen dieselbe Menge, d i. 1 gr Stärke zu bringen, wenn vor jeder Entnahme von 10 ccm der Inhalt des Kölbchens gut durchgeschüttelt wird. In einem kochenden Wasserbade wurde der Inhalt der Kölbchen sorgfältig verkleistert.

Kölbchen I wurde auf 57° C heruntergekühlt und mit 0,5 ccm des Auszuges versetzt. Nach kräftigem Durchschütteln brachte man das Kölbchen in ein auf 57° eingestelltes Wasserbad und notierte die Zeit. Nach 5' erfuhr das Kölbchen II dieselbe Behandlung, der Stärkekleister wurde auch hier mit 0,5 ccm Aus-

zug versetzt. Kölbchen III und IV wurden mit 1 ccm Auszug verzuckert, Kölbchen V und VI folgten im Zeitraum von 5 Minuten mit einer Zugabe von 1,5 ccm Auszug. Nach 30 Minuten wurde im I Kölbchen die Wirkung der Diastase durch Aufkochen unterbrochen, die Flüssigkeit auf 17,5° C abgekühlt und auf 100 ccm aufgefüllt. Dieselbe Behandlung erfuhren die Inhalte der anderen Kölbchen.

Die Kjeldahl'sche Methode zur Zuckerbestimmung kann bei zusammenhängenden Versuchen, wo ein grösserer Spielraum in den produzierten Maltosemenge herrscht, nicht verwendet werden. Benützt man z. B. 30 ccm Fehling'sche Lösung zur Maltosebestimmung, so muss, wenn ein Resultat erzielt werden soll, die berechnete Kupfermenge sich zwischen 40 und 262 mgr bewegen In unseren Versuchen konnte dies nicht vorausgesehen werden. Es wurde daher die Maltosebestimmung nach Wein ausgeführt.

50 ccm der Fehling'schen Lösung wurden in einer Henkelschale zum Kochen erhitzt und dann 25 ccm Zuckerlösung zugegeben. Die Lösung wurde 4 Minuten im Kochen erhalten, der Niederschlag auf einem Goochtiegel filtriert, ausgewaschen, geglüht, gewogen, auf Kupfer umgerechnet und die Maltosemenge in der Wein'schen Tabelle aufgeschlagen.

	In 25 ccm der verzuckerten Lösung waren:	In 100 ccm der verzuckerten Lösung sind enthalten:
I:	31,1 mgr Maltose,	124,4 mgr Maltose,
II:	13,6 „ „	54,4 „ „
III:	64,9 „ „	259,6 „ „
IV:	69,3 „ „	277,2 „ „
V:	72,1 „ „	288,4 „ „
VI:	116,7 „ „	466,8 „ „

Diese Versuchsreihe ergab folgendes Resultat:

Auszüge 1 : 20	0,5 ccm		1,0 ccm		1,5 ccm	
Versuche	I	II	III	IV	V	VI
Maltose in mgr	124,9	54,4	259,6	277,2	288,4	466,8

Nach den Versuchsbedingungen wurden die Inhalte der Kölbchen I und II mit denselben Auszugsmengen (0,5 ccm) verzuckert, die gebildeten Maltosemengen sollten sich entsprechen.

In unserem Versuche ist dies nicht der Fall. Bei Versuch III und IV (1,0 ccm) entsprechen sich die gebildeten Maltosewerte annähernd, bei Versuch V und VI differieren sie wieder beträchtlich.

Dieses eigentümliche Verhalten konnte seinen Grund nur in der Bereitung des Stärkekleisters haben. Dadurch, dass die Stärke in jedem einzelnen Kölbchen verkleistert wurde, war die Verkleisterung keine regelmässige, die Angreifbarkeit durch die Diastase eine verschiedene.

Es folgen daher Versuche, die mit einem einheitlichen Stärkekleister ausgeführt wurden.

Versuchsreihe B.

Die Versuche wurden, was die Konzentration des Kleisters, die Bereitung des Malzauszuges, die Einwirkungsdauer- und -temperatur anbelangt, wie bei der Versuchsreihe A ausgeführt, der Unterschied liegt in der Bereitung des Stärkekleisters. Derselbe wurde nach den Angaben von v. Egloffstein (l. c.) hergestellt.

In einem Nickelbecher, der in einem emaillierten Gefäss mit kochendem Wasser sich befand, wurden 200 ccm destilliertes Wasser zum Kochen gebracht und 8,75 gr gut gepulverte und mit Wasser aufgeschlemmte Stärke in das kochende Wasser des Nickelbechers eingerührt und 30 Minuten im Kochen erhalten. Hierauf wurde der Kleister abgekühlt, in einen 300 ccm Kolben mit weitem Halse übergeführt und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt. Von dem gut durchgeschüttelten Kleister wurden Proben von 35 ccm, d. ist 1 gr Stärke in 35 ccm Wasser, in 100 ccm Kölbchen gegeben und auf die Temperatur von 57° C gebracht. Der weitere Gang der Versuche war der gleiche wie in der Versuchsreihe A.

25 ccm des auf 100 ccm aufgefüllten verflüssigten und verzuckerten Stärkekleisters waren imstande folgende Kupferoxydmengen zu geben:

0,5 ccm Auszug 1 : 20
I: CuO = 0,0145 gr
II: CuO = 0,0154 gr
1,0 ccm Auszug 1 : 20
III: CuO = 0,0377 gr
IV: CuO = 0,0348 gr
1,5 ccm Auszug 1 : 20
V: CuO = 0,0874 gr
VI: CuO = 0,0898 gr

Die gebildeten Kupferoxydmengen geben nun schon eher Aufschluss über die Wirkungsweise des Auszuges auf den Stärkekleister. Sie stimmen bei den Versuchen I und II, die mit gleichen (0,5 ccm) Auszugsmengen ausgeführt wurden, annähernd überein. Das gleiche gilt bei den Versuchen III, IV und V, VI. Die Vermutung, dass der Grund in den Differenzen der Resultate in der vorigen Versuchsreihe in der Bereitung des Stärkekleisters zu suchen sei, hat hiemit ihre Bestätigung gefunden.

Die Bereitung des Stärkekleisters spielt demnach einen wesentlichen Faktor bei einer Fermentativbestimmung. In einer späteren Arbeit über die Bestimmung des Verflüssigungsvermögen von Malzen wird an Versuchen klargelegt werden, dass die Verflüssigungskraft abhängig ist von der Art der Kleisterbereitung. Da die Verzuckerung der Verflüssigung folgt, so sind die Unterschiede in den Zuckermengen selbst bei Einwirkung gleicher Diastasemenge erklärlich.

Ausserdem ist die Zunahme an Zucker mit der Diastasemenge nicht die entsprechende, wie es nach dem Kjeldahl'schen Proportionalitätsgesetz zu erwarten wäre. Die Maltosemengen wachsen zwar mit den Auszugsmengen aber in ungleich grösserem Verhältnisse. Der Grund wird, da bei höherer Temperatur gearbeitet wird, auf die Wirkung der die Zuckerbildung günstig beeinflussenden Nebenbestandteile des Malzes zurückzuführen sein.

Die Versuche haben deutlich gezeigt, dass der Kleister kein geeignetes Substrat für die Bestimmung der diastatischen Kraft darbietet. Man gab nun weitere Versuche mit Stärkekleister auf und wendete sich der löslichen Stärke zu. Es erschien daher auch aussichtslos die Bestimmung des Verflüssigungsvermögens mit der des Verzuckerungsvermögens zu kombinieren.

III.

Versuche mit „löslicher Stärke."

Es schien nicht ohne Interesse Versuche darüber anzustellen, ob die nach A. Wróblewski gewonnene lösliche Stärke (Chemikerzeitung 1898, 38, S. 375) Vorzüge vor der nach C. J. Lintner (s. u.) bereiteten besitzt. Der Versuch zeigte jedoch, dass dies nicht der Fall ist, dass sich vielmehr mit Alkali viel weniger leicht ein gleichmässiges Produkt erzielen lässt als mit Säure.

Es wurde daher das Verfahren von C. J. Lintner (Zeitschrift f. d. g. Brauw. 1886. S. 475) beibehalten, nach welchem ein beliebiges Quantum einer Kartoffelstärke während 7—8 Tage mit 7,5%iger Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur behandelt und durch Waschen mit kalkhaltigem Brunnenwasser von der Säure befreit wird. Es gelingt so die letzten Spuren von Säure, welche von der Stärke hartnäckig zurückgehalten wird, zu neutralisieren und herauszuwaschen; allein das dauert sehr lange. Es wurde daher nach dem Vorschlag von Ford und Guthrie in der Weise verfahren, dass die mit Leitungs- und destilliertem Wasser gut ausgewaschene und abgenutschte Stärke in destilliertem Wasser mittelst eines Rührwerkes wieder aufgeschlemmt wurde. Von Zeit zu Zeit fügte man eine sehr verdünnte Lösung von Natriumbikarbonat hinzu und prüfte immer wieder die Reaktion mit Rosolsäure. Nach dem Neutralisieren wurde die Stärke wiederholt durch Dekantieren und zuletzt auf der Nutsche mit destilliertem Wasser ausgewaschen und schliesslich an der Luft getrocknet. Das Produkt war gegen Rosolsäure und Lackmus völlig neutral.

Kleemann (l. c.) schlägt vor, die letzten Spuren von Säure mit $\frac{n}{4}$ Natronlauge zu neutralisieren. Er verfährt derart, dass er in einem Teile der gut gewaschenen löslichen Stärke mit Viertel-Normalnatronlauge und Lackmus als Indikator den Säuregrad bestimmt und dann die berechnete Menge Natronlauge der Stärkemilch zufügt. Diese Art der Neutralisation wurde nicht für zweckmässig befunden, da eine Spur Ueberschuss von Natronlauge weit mehr schädigend auf die Diastase wirkt als die der Stärke anhaftenden Spuren von Salzsäure.

Versuche mit verschiedenen löslichen Stärkesorten.

Um zu untersuchen, ob verschiedene Stärkesorten im löslichen Zustande sich gegen Diastase völlig gleich verhielten, wurden mit löslicher Kartoffel-, Reis- und Marantastärke, die nach dem im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Verfahren hergestellt wurden, Fermentativkraftbestimmungen nach Ford und Guthrie (l. c. S. 209) ausgeführt.

10 gr lufttrockene, lösliche Stärke wurde in einer Reibschale mit kaltem, destilliertem Wasser gut verrieben und diese in einen Nickelbecher, in dem sich 200 ccm kochendes Wasser befanden, gespült und gut durchgerührt. Nachdem die Lösung aufgekocht

hatte, wurde sie abgekühlt, in ein 300 ccm Kölbchen gebracht und bis zur Marke aufgefüllt. 70 ccm davon wurden in ein 100 ccm Kölbchen gegeben und zum Versuch verwendet. Die Versuchsflüssigkeit brachte man auf die Temperatur von 40° C und liess 1 ccm Malzauszug während einer Stunde auf dieselbe einwirken. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1 ccm verdünnter Sodalösung (10 gr auf 1 Liter) unterbrochen, die verzuckerte Stärkelösung auf 17,5° C abgekühlt, auf 100 ccm aufgefüllt und gut durchgeschüttelt. Die gebildete Maltose wurde nach Wein bestimmt. Es ergab sich Folgendes:

A) Lösliche Kartoffelstärke.

Berechnung:

25 ccm der verzuckerten Stärkelösungen ergaben:

0,1775 gr CuO = 0,1418 gr Cu = 0,124 gr Maltose.
In 100 ccm sind 0,496 gr Maltose enthalten.
Demnach erzeugte 1 ccm Malzauszug in einer Stunde bei 40° C 0,496 gr Maltose.

B. Lösliche Reisstärke.

25 ccm Zuckerlösung entsprechen 0,1932 gr CuO; 0,1544 Cu; 0,1354 gr Maltose.
1 ccm Auszug erzeugte 0,5416 gr Maltose.

C. Lösliche Marantastärke.

25 ccm der Zuckerlösung entsprechen 0,1384 CuO; 0,1106 gr Cu; 0,096 gr Maltose.
1 ccm Auszug erzeugte 0,384 gr Maltose.

Aus dem Resultate der Versuche ist ersichtlich, dass die verschiedenen Stärkesorten sich Diastase gegenüber in Bezug auf ihre Angreifbarkeit verschieden verhalten. Am leichtesten verzuckert wurde Reisstärke, am schwersten die Marantastärke.

Es stünde noch die Frage offen ob nicht, da die Versuche bei 40° C ausgeführt wurden, die verschiedene Verzuckerung auf die Wirkung der begünstigenden Nebenbestandteile des Malzes zurückzuführen sei. Es wurde daher bei löslicher Kartoffel- und Reisstärke bei gewöhnlicher Temperatur nach dem später[1]) angegebenen Verfahren die Verzuckerung bestimmt. Das Resultat war dasselbe wie bei den Versuchen bei 40° C, nur dass die Unterschiede bei weitem geringer ausfielen.

1) Siehe Seite 40.

Es ergaben sich folgende Werte:

Kartoffelstärke

$$Fr = 15 \cdot 21{,}08 = 316{,}2\ ^{1})$$

Reisstärke

$$Fr = 15 \quad 21{,}53 = 322{,}9$$

Gleichwohl empfiehlt es sich für vergleichende Fermentativbestimmungen auch bei gewöhnlicher Temperatur stets die gleiche Stärke anzuwenden.

Es wurden nun sämtliche weitere Versuche mit löslicher Kartoffelstärke ausgeführt.

IV.

Einfluss der Konzentration der Versuchsflüssigkeiten auf die Zuckerproduktion bei verschiedenen Temperaturen.

Kjeldahl (l. c. S. 181) hat bereits gezeigt, dass kleine Abweichungen in der Konzentration der Stärkelösung bei 57° C und einer Einwirkungsdauer von 20 Minuten keinen merklichen Einfluss auf die Zuckerbildung haben.

Es schien uns von Interesse, Versuche über das Verhalten von Diastase Stärkelösungen von sehr verschiedenen Konzentrationen gegenüber bei längerer Einwirkungsdauer und verschiedenen Einwirkungstemperaturen anzustellen, um zu ermitteln unter welchen Bedingungen die besten Resultate erzielt werden.

Es wurde mit 2, 5 und 10prozentigen Stärkelösungen bei 20°, 40° und 55° C gearbeitet. Diese Temperaturen wurden gewählt, weil man ihnen bei den Methoden der Fermentativkraftbestimmung begegnet.

Die Bereitung der Versuchsflüssigkeiten geschah wie im vorhergehenden Versuche. Die 2prozentige Stärkelösung stellte eine ganz schwach opalisierende Flüssigkeit dar, die 5prozentige Lösung ist nur bei Siedehitze fast klar, sie trübt sich schon beim Abkühlen auf 40° C ziemlich stark, die 10prozentige ist dickflüssig, nach eintägigem Stehen hatte sie sich stark getrübt und in eine sulzige Masse verwandelt.

1) Seite 9, Anmerkung.

Die Maltose in den verzuckerten Stärkelösungen wurde nach den Angaben der englischen Brauereichemiker (l. c. S. 6) titrimetrisch bestimmt.

Die gefundenen Maltosemengen wurden durch 3 ccm Auszug 1:20 während 1 Stunde in 100 ccm der Stärkelösung gebildet und auf 1 gr lufttrockenes Malz umgerechnet.

Man erzielte folgende Werte:

20°

Konzentration der Stärkelösung	2%	5%	10%
Maltose in gr	4,1028	4,848	6,752

40°

Konzentration der Stärkelösung	2%	5%	10%
Maltose in gr.	6,666	8,268	12,698

55°

Konzentration der Stärkelösung	2%	5%	10%
Maltose in gr.	3,704	4,804	7,208

Es ergab sich, dass bei sämtlichen Versuchen die Zuckerproduktion mit der Konzentration der Stärkelösung zugenommen hatte. Am bedeutendsten war die Zunahme bei 40° C. Es erscheint auffallend, dass bei 20° in einer Stunde fast ebensoviel Maltose gebildet wurde wie bei 55° C. Es hängt dies also offenbar damit zusammen, dass während dieser Zeit bei höherer Temperatur eine beträchtliche Schwächung der Diastase eingetreten ist, so dass sich die langsamere Wirkung bei 20° C mit der bei 55° fast ausgleichen konnte. Bei 40° war diese Schwächung noch nicht eingetreten, deshalb hat die diastatische Wirksamkeit noch einen bedeutenden Vorsprung.

Das rasche Anwachsen der Zuckermengen mit der Konzentration der Stärkelösungen bei 40° und 55° bestätigt die bekannte

Tatsache, dass die Stärke bei höherer Temperatur eine schützende Wirkung auf die Diastase ausübt. Es würde sich daher empfehlen, bei höheren Temperaturen mit hochprozenigen (10%) Lösungen zu arbeiten.

Wenn man später gleichwohl auf die 2%ige Lösung zurückkam, so war dafür der Umstand ausschlaggebend, dass man bei der Bestimmung der diastatischen Kraft am besten bei einer Temperatur von 20° C arbeitet. Diese Temperatur verbietet aber die Anwendung konzentrierter Stärkelösungen.

V.

Einfluss der Dauer der Reaktion auf die Proportionalität der Zuckerbildung.

Für die Fermentativbestimmung war es von Bedeutung, zu ermitteln innerhalb welcher Zeitdauer der Einwirkung nach Proportionalität zwischen den angewandten Diastasemengen und der Zuckerproduktion besteht.

Zu diesem Zwecke wurden Versuche mit Merck'scher Diastase bei 20, 40 und 55° C und einer Einwirkungsdauer von 15, 30, 45 und 60 Minuten ausgeführt.

Man bediente sich der Diastase absol. Merck an Stelle eines Malzauszuges, um bei dieser grossen Versuchreihe ein möglichst gleichmässiges Ferment zu haben. Die diastatische Wirksamkeit desselben wurde nach den Angaben von C. J. Lintner (Zeitschrift für d. ges. Brauwesen 1886, S. 476) bestimmt.

Die Diastaselösung wurde bereitet, indem 0,3 gr Diastase in einer Reibschale mit wenig Wasser zerrieben, in ein 100 ccm Kölbchen gegeben und die Flüssigkeit auf die Marke aufgefüllt wurde. Das Filtrat davon verwendete man zur Fermentativbestimmung. 0,4 ccm dieser Lösung waren imstande, während einer Stunde bei gewöhnlicher Temperatur in einer 2%igen Stärkelösung soviel Zucker zu erzeugen, dass 5 ccm Fehling'sche Lösung reduziert wurden.

Fermentativvermögen nach Lintner $\frac{0{,}12}{1{,}2} \cdot 100 = 10$

Auf Grund dieser Bestimmung wurden immer 3 ccm der Diastaselösung zu jedem folgenden Versuche verwendet.

Die Versuchsflüssigkeit war eine Lösung von 2%iger löslicher Kartoffelstärke, von welcher je 100 ccm in einem 200 ccm Kölbchen verzuckert wurden. Die Versuche wurden mit $\frac{n}{10}$ NaoH unterbrochen, die Kölbchen bis zur Marke aufgefüllt und der Zucker titrimetrisch bestimmt.

Beispiel für die Berechnung der Befunde:

5 ccm Fehling'sche Lösung wurden reduziert durch 71,8 ccm Zuckerlösung,

In 71,4 ccm Zuckerlösung sind enthalten 0,04 gr Maltose
In 200 „ „ „ „ 0,1114 gr „

3 ccm Diastaselösung erzeugen in 100 ccm einer 2%igen Stärkelösung 0,1114 gr Maltose.

100 ccm Diastaselösung = 0,3 gr Diastase absol. Merck geben 3,71 gr Maltose.

Einwirkung von 0,3 gr Diastase auf 2%ige Stärkelösung während 15, 30, 45 und 60 Minuten:

a) bei 20° C

Zeiten	15'	30'	45'	60'
Maltose-Mengen	3,71	6,94	9,36	12,01

b) bei 40° C

Zeiten	15'	30'	45'	60'
Maltose-Mengen	10,14	16,59	21,51	24,46

c) bei 55° C

Zeiten	15'	30'	45'	60'
Maltose-Mengen	5,16	7,32	10,42	11,59

Aus den Tabellen kann man ersehen, dass die Einwirkungsdauer bei einer Fermentativbestimmung einen wohl zu beachtenden Faktor ausmacht. Das Fermentativvermögen nimmt mit den

Zeiten ab, jedoch nicht regelmässig. Die Abnahme nimmt zu mit der Temperatur.

Schon bei 20° C und einer einstündigen Einwirkungsdauer bleiben die gebildeten Zuckermengen hinter den berechneten zurück, es ist also bereits bei gewöhnlicher Temperatur die Einwirkungsdauer von 60 Minuten bei einer Fermentativbestimmung zu lang. Der Fehler wird verringert, indem man die Einwirkungszeit der Diastase auf 30 Minuten reduziert, welche Zeit in der später angeführten Methode festgehalten wurde.

Bei 40 und 55° C treten die Unterschiede erheblich stärker hervor. Eine einstündige Einwirkungsdauer bedingte bei diesen Versuchen schon eine beträchtliche Abnahme der Maltosemengen. Wenn man bei höheren Temperaturen arbeiten will, muss man daher eine sehr kurze Verzuckerungszeit wählen, um nicht Gefahr zu laufen, die Diastase zu schwächen. Kjeldahl hat dies auch bei seinen grundlegenden Versuchen berücksichtigt, indem er eine Verzuckerungszeit von 20 Minuten wählte.

VI.

Versuche darüber, ob man unter den Bedingungen der Fermentativbestimmung die bei hohen Temperaturen gebildeten Maltosemengen mit denen bei niedriger Temperatur vergleichen kann, ob man daher das beispielsweise bei 50° C erhaltene Fermentativvermögen auf das bei 20° C umrechnen kann.

Kjeldahl (l. c. S. 89) gelangte in den Untersuchungen über den Einfluss der Temperatur auf die Zuckerbildung zu dem Ergebnis, dass die Zuckerproduktion mit der Temperatur regelmässig zunimmt bis die Optimaltemperatur von 63° C erreicht ist. C. J. Lintner und Eckhardt (Zeitschrit f. d. ges Brw. 1889, S. 391), welche nicht wie Kjeldahl mit verflüssigtem Stärkekleister, sondern mit löslicher Stärke arbeiteten, bestätigten die Angaben des letzteren Forschers, nur finden sie das Temperaturoptimum bei 50° C.

Nach diesen Arbeiten müsste ein Zusammenhang zwischen den gebildeten Maltosemengen und den Temperaturen unterhalb des Temperaturoptimums bestehen und eine Fermentativbestimmung innerhalb dieses Temperaturintervales liesse für alle Temperaturen die Werte für die diastatische Kraft berechnen. In der Tat geben

Ford und Guthrie an, dass bei 40° C 2,75 mal so viel Zucker gebildet würde als bei 21° C.

Eine Versuchsreihe mit Auszügen von dunklen Malzen sollte hierüber Aufklärung geben.

Die Ausführung der Versuche war folgende:

100 ccm einer 2prozentigen Stärkelösung wurden in ein 150 ccm Kölbchen gebracht und mit 6 ccm Malzauszug (1:20) während $^1/_2$ Stunde bei 20°, 40° und 55° C verzuckert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Reaktion durch 10 ccm $\frac{n}{10}$ NaoH unterbrochen, auf 17,5° C abgekühlt und auf 150 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Die Maltose wurde titrimetrisch bestimmt, indem man nach einem Vorversuch eine genaue Bestimmung nach Reischauer-Kruis ausführte[1]). Die gefundenen Zuckerwerte wurden auf 1 gr Malztrockensubstanz umgerechnet.

Dunkle Malze:

Malze.	Temperaturen.		
	20° C	40° C	55° C
I	0,8202	1,255	1,863
II	1,285	2,68	2,53
III	0,7641	1,68	1,53
IV	0,913	1,59	1,642
V	0,7073	1,069	1,121
VI	0,7487	1,371	1,453
VII	0,769	2,39	2,244
VIII	0,6878	1,855	2,078
IX	0,6169	1,866	2,069

In der folgenden Tabelle sind die Malze in vertikaler Richtung nach absteigenden Grössen geordnet. Wenn die Maltosezunahme mit den Temperaturen eine gleichmässige bei allen Malzen wäre, so müsste sich in der horizontalen Reihe immer dasselbe Malz finden.

1) Anmerkung: Die genauere Beschreibung der Zuckerbestimmung siehe bei der neu ausgearbeiteten Methode zur Fermentativkraftbestimmung, S. 41.

Dunkle Malze.

	Temperaturen		
	20° C	40° C	55° C
Malze	II	II	II
	IV	VII	VII
	I	IX	VIII
	VII	VIII	IX
	III	III	I
	VI	IV	IV
	V	VI	III
	VIII	I	VI
	IX	V	V

Unsere Versuche lassen eine regelmässige Beziehung zwischen den bei verschiedenen Temperaturen gebildeten Zuckermengen nicht erkennen; bei den untersuchten Malzen gibt die Umrechnung der Maltosemengen bei 20° auf die bei 40 und 55° unter Zugrundelegung des Faktors des Malzes II ganz andere Werte als die Versuche ergeben. Speziell die obige Anordnung lässt dies erkennen.

VII.

Einfluss verschiedener Diastasemengen auf die Zuckerbildung.

Nach einer anderen Richtung hin sind die Ergebnisse der vorhergehenden Versuche noch auffallend. Aus Kjeldahl's Untersuchung wissen wir, dass die Maltosemengen mit den Temperaturen bis zur Optimaltemperatur zunehmen. Unsere Versuche bestätigen dies nur zum Teil. Die bei 40° C gebildeten Maltosemengen überragen zwar die bei 20°, die bei 55° C gefundenen stehen aber oft hinter denen bei 40° erhaltenen zurück. Der Grund dieser Verschiedenheit zwischen Kjeldahls und unserem Ergebnisse ist in der verschiedenen Arbeitsweise zu erblicken. Kjeldahl arbeitet mit konzentriertem Stärkekleister und 8 ccm Malzauszug (1 : 4), wir dagegen bedienten uns einer verdünnten

Stärkelösung und 2 ccm Auszug (1 : 20). Wir waren daher bestrebt von unsern Befunden ausgehend uns den Versuchsverhältnissen Kjeldahls zu nähern. Dies musste einerseits durch Verwendung grösserer Malzauszugsmengen und andererseits durch das Arbeiten mit Versuchsflüssigkeiten von höherer Konzentration geschehen.

Zunächst wurden Versuche unter ganz den gleichen Bedingungen wie früher ausgeführt, d. h. die Stärkelösungen waren 2%ig, die Einwirkungsdauer betrug $^1/_2$ Stunde, die Einwirkungstemperaturen waren 20°, 40° und 55°, die Malzauszugsmengen vaiierten. Die Maltosewerte wurden auf 1 gr Malztrockensubstanz umgerechnet.

Anmerkung: Da die Diastasewirkung bei den Versuchen durch 10 ccm $\frac{n}{10}$ NaoH sistiert wurde, könnten Bedenken entstehen, dass dieselbe bei höherer Temperatur zerstörend auf den Zucker wirken würde. In der Tat wurde auch bei höherer Temperatur eine geringe Gelbfärbung in der verzuckerten Stärkelösung bei der Zugabe von Natronlauge beobachtet, dieselbe bedingte aber keinen messbaren Fehler, wie sich aus folgenden Versuchen ergibt, wobei einmal die Reaktion durch Aufkochen, das anderemal durch 10 ccm $\frac{10}{n}$ NaoH unterbrochen wurde.

Die Maltosewerte, die sich bei 55° C ergaben, wurden auf 1 gr Malztrockensubstanz umgerechnet.

Resultat:

Unterbrechung der Diastasewirkung:

a)	durch Aufkochen	5,946 gr Maltose,
b)	„ $\frac{n}{10}$ NaoH (10 ccm)	5,83 gr „

Das geringe Plus an Maltose bei dem Versuche a kann dem Umstand zugeschrieben werden, dass die Flüssigkeit noch eine geringe Nachverzuckerung erfuhr, bevor die Siedetemperatur erreicht worden war. Die Unterbrechung der Diastasewirkung durch 10 ccm Zehntel-Normal Natronlauge bei einer Fermentativkraftbestimmung hat somit keine Bedenken und hat dabei den Vorzug einer bequemeren Arbeitsweise.

Die Versuche ergaben folgende Werte:

2 ccm Auszug 1:20.

Temperaturen	20°	40°	55°
Maltose auf 1 gr Malztrockensubstanz berechnet.	2,558	2,994	2,325

3 ccm Auszug 1:20.

Temperaturen	20°	40°	55°
Maltose auf 1 gr Malztrockensubstanz berechnet.	2,544	4,1818	3,087

Bei 20° C sind die gebildeten Maltosemengen die gleichen, gleichgültig ob man mit 2 oder 3 ccm Auszug verzuckert. Bei den höheren Temperaturen 40° und 55° C erhält man mit den Auszugsmengen wachsende Maltosemengen.

Um nun die Versuchsreihe fortsetzen zu können, ohne Gefahr zu laufen, dass das Proportionalitätsgesetz überschritten würde und ausserdem, um die Konzentration der Stärkelösung zu ändern, wurde mit 5%iger Stärkelösung gearbeitet, die Malzauszugsmengen variierten von 2–6 ccm.

Zur Bereitung der Stärkelösung wurden 5 gr genau abgewogene, lösliche Stärke in ein 150 ccm Kölbchen gebracht, mit 100 ccm Wasser versetzt und durch kräftiges Umschütteln und Aufkochen gelöst. Nachdem man in der Versuchsflüssigkeit die gewünschte Temperatur durch Abkühlen erhalten hatte, wurde der Versuch unter Zugabe von entsprechenden Auszugsmengen begonnen. Der weitere Verlauf der Operation ist derselbe wie beim Arbeiten mit 2%iger Stärkelösung. Es wurde ausserdem noch eine Maltosebestimmung im Auszug ausgeführt und das Ergebnis bei der Umrechnung auf 1 gr Malztrockensubstanz berücksichtigt.

Die Versuche führten zu folgenden Werten:

A) Bei 2 ccm Auszug 1:20.

Temperaturen	20°	40°	55°
Maltosewerte auf 1 gr Malztrocken-substanz berechn.	2,7569	4,9245	2,6462

B) Bei 3 ccm Auszug 1:20.

Temperaturen	20°	40°	55°
Maltosewerte auf 1 gr Malztrocken-substanz berechn.	2,7079	4,9792	3,2479

C) Bei 4 ccm Auszug 1:20.

Temperaturen	20°	40°	55°
Maltosewerte auf 1 gr Malztrocken-substanz berechn	2,7089	5,3779	5,0549

D) Bei 5 ccm Auszug 1:20.

Temperaturen	20°	40°	55°
Maltosewerte auf 1 gr Malztrocken-substanz berechn.	2,5659	6,0749	6,642

E) Bei 6 ccm Auszug 1:20.

Temperaturen	20°	40°	55°
Maltosewerte auf 1 gr Malztrocken-substanz berechn.	2,5809	6,1709	7,1609

Die angestellten Versuche ergaben folgende wichtige Resultate:

1) Je mehr wir uns den Bedingungen nähern, unter denen Kjeldahl arbeitete, umsomehr können wir die Richtigkeit seiner Versuche bestätigen, beim Arbeiten mit grossen Mengen Malzauszug und 5%igen Stärkelösungen können wir ebenfalls eine Zunahme der Maltosebildung mit steigender Temperatur beobachten, wir ersehen aber auch, dass sich, je weiter wir uns von diesen Bedingungen entfernen, um so grössere Unregelmässigkeiten in der Zuckerbildung, folglich auch in der diastatischen Kraftbestimmung, ergeben. Beginnt man mit der Einwirkung von 6 ccm Auszug auf 5%ige Stärkelösung während einer halben Stunde, so beobachtet man ein stetiges Anwachsen der Zuckermengen mit den Temperaturen. Bei 55° wird nahezu die 3fache Menge Zucker gebildet als bei 20° C.

Bei dem Versuche mit 5 ccm Auszug ist die Zuckermenge bei 20° dieselbe als bei den anderen Versuchen, bei 40° und 55° C ist die Zuckerbildung eine geringere.

Bei C ist bei 40° fast doppelt soviel Maltose gebildet worden wie bei 20° C, während bei 55° bereits wieder ein Rückgang stattgefunden hat.

Bei der Versuchsreihe mit 3 ccm Auszug ist die Zunahme bei 40° hier geringer als mit 4 ccm Auszug und der Rückgang bei 55° stärker.

Dasselbe gilt für die Versuchsreihe mit 2 ccm Auszug gegenüber der mit 3 bei 55°, während bei 40° C zwischen 2 und 3 sich kein nennenswerter Unterschied ergibt.

2) Eine Proportionalität zwischen den angewandten Diastasemengen, bezw. Kubikcentimeter Malzauszug und der gebildeten Maltose kann man nur bei den bei 20° C ausgeführten Versuchen beobachten.

Bei den Versuchen, welche bei den Temperaturen 40 und 55° C ausgeführt worden sind, haben grössere Mengen von Malzauszug unverhältnismässig mehr Maltose gebildet als kleinere.

Das Kjeldahl'sche Proportionalitätsgesetz hat also unter den von uns eingehaltenen Bedingungen nur bei 20° C seine Giltigkeit behalten.

Die Ursache dieser Erscheinung vermuten wir in dem Einfluss von Nebenwirkungen, hervorgerufen durch gewisse Bestandteile des Malzauszuges. Bei Kjeldahl mögen diese Einflüsse dadurch ausgeglichen werden, dass er seine Versuchsflüssigkeit

schon durch die Einwirkung grosser Mengen Malzauszug auf Stärkekleister herstellt.

VIII.

Versuche über die Beeinflussung der Diastasewirkung durch nicht enzymatische Bestandteile des Malzauszuges auf die Zuckerbildung.

Effront (l. c. p. 126 ff.) hat durch Zusatz von Asparagin, Eiweisskörpern und Phosphaten eine Verstärkung der Zuckerbildung durch Diastase erhalten. Mohr (Zur Bestimmung d. diast. Kraft n Lintner; Wochenschrift für Brauerei, 1902, S. 313) hat später nachgewiesen, dass diese Einflüsse sich bei der Bestimmung der diastatischen Kraft nach Lintner, also bei Zimmertemperatur nicht geltend machen, was mit unseren Ergebnissen übereinstimmt.

Es schien uns nun von Interesse, den Einfluss der im Malzauszug enthaltenen, nicht enzymatischen Bestandteile auf die Zuckerbildung in der Weise zu prüfen, dass wir einmal aufgekochten Malzauszug, in welchem die Enzyme abgetötet wurden, dann aus Malz hergestellte und neutralisierte Asche bei der Verzuckerung zusetzten.

Zu diesem Zwecke wurden mit 3 Malzsorten Versuche angestellt, indem man für 100 ccm 5prozentige Stärkelösung in der einen Versuchsreihe den wirksamen Auszug allein, in der andern neben dem wirksamen Auszug noch die gleiche Menge durch Aufkochen unwirksam gemachten Auszuges verwendete. Die Verzuckerungszeit betrug eine halbe Stunde, die Einwirkungstemperaturen waren 20 und 55° C.

Der unwirksame Auszug wurde bereitet, indem man einen Teil des wirksamen Auszuges 2 Minuten im Kochen erhielt und dann filtrierte.

Der präexistierende Zucker im Malzauszug wurde bestimmt und bei der Maltoseberechnung berücksichtigt.

Zusammenstellung der während 30 Minuten in 100 ccm einer 2-prozentigen Stärkelösung gebildeten Maltosemengen:

I. Bei Luftmalz:

	20°	55°
2 ccm wirksamer Auszug:	3,9347 gr	5,5494 gr
2 ccm wirks. Ausz. u. 2 ccm aufgek. Ausz.	4,0806 gr	8,2908 gr

II. Bei hellem Malze:

	20°	55°
3 ccm wirksamer Auszug:	2,5514 gr	1,9512 gr
3 ccm wirks. Ausz. u. 3 ccm aufgek. Ausz.	2,5574 gr	3,5058 gr

III. Bei dunklem Malze:

	20°	55°
6 ccm wirksamer Auszug:	0,8901 gr	1,4161 gr
6 ccm wirks. Ausz. u. 6 ccm aufgek. Ausz.	1,0097 gr	2,6032 gr

In den obigen Versuchen hat man zunächst eine Bestätigung dafür, dass die im Malze enthaltenen Nebenbestandteile bei gewöhnlicher Temperatur keinen wesentlichen Einfluss auf die Zuckerbildung ausüben.

Bei höherer Temperatur dagegen bilden die Extraktivstoffe einen wohl zu beachtenden Faktor. Die Versuche zeigen, dass bei Zugabe von abgetötetem Auszug ein bedeutender Zuckerzuwachs bei den 3 Malzsorten zu verzeichnen ist. Da die Zusammensetzung der Malze und auch das Vorhandensein von Diastase sehr verschieden sein kann, so wird das Resultat einer Fermentativkraftbestimmung nicht allein von der Menge der Diastase, sondern auch von gewissen in den Malzen vorhandenen Nebenbestandteilen abhängig sein.

Man könnte nun der Ansicht sein, dass es bei der Würdigung eines Malzes sich gleich bliebe, ob man die Verzuckerung der Diastase allein oder die durch die Diastase und den begünstigenden Substanzen erhaltene Fermentativkraft bestimmt. In der Praxis werden diese aktiven Substanzen kaum zur Geltung kommen, da die Wirkung derselben mit der Anreicherung der Zuckermenge abnimmt. In unseren Versuchen können natürlich, da wir keine hohe Verzuckerung brauchen können, die auf die Verzuckerung günstig wirkenden Nebenbestandteile ganz zu ihrer Wirkung gelangen.

Ueber die Natur der nicht enzymatischen Bestandteile des Malzes geben folgende Versuche Aufschluss. Für die Untersuchungen mit den anorganischen Bestandteilen des Malzes wurden 5 gr eines hellen Darrmalzes in einer Platinschale vorsichtig verascht, mit Wasser aufgenommen, in ein 100 ccm Kölbchen gespült und zur Marke aufgefüllt. Da die Lösung mit Rosolsäure eine schwach alkalische Reaktion gab, musste sie mit sehr verdünnter Essigsäure neutralisiert werden.

Ausserdem wurde ein Auszug 1 : 20 aus obigem hellem Malze hergestellt, wovon ein Teil zur Zerstörung der Diastase aufgekocht wurde.

Die Versuche, welche bei 55° mit ungeschwächtem Auszug, auch ausserdem mit aufgekochtem Auszug und Aschelösung ausgeführt wurden, ergaben folgende Werte:

55° C

	Maltosebildung
1) 3 ccm ungeschwächter Auszug:	3,432 gr
2) 3 ccm wirksamer u. 3 ccm aufgekochter Auszug:	4,856 gr
3) 3 ccm wirksamer Auszug u. 3 ccm Aschelösung:	4,173 gr

Die Resultate der drei Fermentativkraftbestimmungen differieren beträchtlich. Die Zuckerbildung war bei Versuch 2, bei dem sowohl anorganische als organische, begünstigende Bestandteile anwesend waren, die grösste, der dritte Versuch zeigte aber auch, dass die anorganischen Bestandteile allein eine erhöhte Zuckerproduktion hervorriefen.

Die die Zuckerbildung begünstigenden, nicht enzymatischen Bestandteile des Malzes sind demnach anorganischer und organischer Natur.

Die obigen Untersuchungen wurden durch weitere Versuche bestätigt. Es wurden, anstatt das Malz zu veraschen, 150 ccm des wässerigen Auszuges eingedampft, geglüht, in Wasser aufgenommen, filtriert, neutralisiert und auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt.

Bei gewöhnlicher Temperatur zeigte sich bei den drei Versuchen kein wesentlicher Unterschied, bei 55° trat dieselbe Erscheinung wie bei den obigen Versuchen zutage.

20° C

	Maltosebildung
1) 3 ccm wirksamer Auszug:	2,727 gr
2) 3 ccm wirksamer Ausz. u. 3 ccm aufgek. Ausz.:	2,774 gr
3) 3 ccm wirksamer Auszug u. 3 ccm Aschelösung:	2,74 gr

Aus den Versuchen ergibt sich, dass die Diastase am wenigsten beeinflusst durch Nebenumstände bei gewöhnlicher Temperatur (20° C) ihre Wirkung entfaltet. Aus diesem Grunde scheint es

auch angezeigt, diese Temperatur für die Bestimmung der diastatischen Kraft von Malzauszügen beizubehalten, denn nur so ist es möglich, zu vergleichbaren Werten zu gelangen.

Es bleibt nur noch übrig, die Grenzen der Proportionalität zwischen Diastasemenge und produzierter Maltose festzulegen.

IX.

Bestimmung der Proportionalitätsgrenze in bei gewöhnlicher Temperatur verzuckerten 2prozentigen Stärkelösungen.

Zu diesem Zwecke wurden wie bei früheren Versuchen verschiedene Mengen wässerigen Malzauszuges auf 100 ccm 2prozentiger, löslicher Kartoffelstärke während 30 Minuten bei 20° einwirken lassen.

Die gebildete Maltose wurde als Reduktionsvermögen ausgedrückt und daher eine Stärketrockensubstanzbestimmung ausgeführt. Wassergehalt 19,61 Prozent.

2 gr lufttrockener Stärke entsprechen 1,6078 gr Stärketrockensubstanz.

1 ccm des Malzauszuges 1 : 20 enthält 0,00534 gr präexistierende Maltose.

Während 30 Minuten erzeugten in 100 ccm 2 prozentiger Stärkelösung bei 20°:

2 ccm 0,28272 gr Maltose
4 ccm 0,56634 gr „
6 ccm 0,78276 gr „
7 ccm 0,78298 gr „

Reduktionsvermögen:

Auszugsmengen:	Gefunden:	Berechnet:
2 ccm	17,58%	17,58%
4 ccm	35,23%	35,16%
6 ccm	48,69%	52,74%
7 ccm	48,74%	61,53%

Die zwei ersten durch den Versuch ermittelten Werte stimmen mit den berechneten überein, es nehmen die Zuckermengen propor-

tional mit den Auszugsmengen zu, die übrigen Werte sind von einander verschieden.

Bei den in dieser Richtung angestellten Versuchen ergibt sich, dass das Proportionalitätsgesetz bei dem Reduktionsvermögen 35 (auf Maltose berechnet) eine Grenze hat. Bei Bestimmungen, wo es nicht auf grosse Genauigkeit ankommt, kann die Verzuckerung bis zum Reduktionsvermögen 48 hinaufgehen.

X.

Verfahren zur Bestimmung der diastatischen Kraft.

Auf Grund der in vorliegender Abhandlung gemachten Erfahrungen, empfiehlt es sich die Bestimmung des Verzuckerungsvermögens folgendermassen auszuführen. Man arbeitet bei gewöhnlicher Temperatur und halbstündiger Einwirkungsdauer. Als Verzuckerungsflüssigkeit dient eine 2%ige Stärkelösung. Die Maltose wird durch Reduktion von Fehling'scher Lösung bestimmt. Die Maltosebestimmung zerfällt in einen titrimetrischen Vorversuch und in den Hauptversuch, in dem die Maltose nach Reischauer-Kruis (E. Wein, Tabellen zur quantitativen Bestimmung der Zuckerarten T. XIII.) ermittelt wird.

A. Bereitung des Malzauszuges.

25 gr fein geschrotetes Darrmalz (Grünmalz wird in einer eisernen Reibschale zerstossen) werden mit 500 ccm destilliertem Wasser bei gewöhnlicher Temperatur 6 Stunden in einem Kolben aus Jenaer Glas eingeteigt und während dieser Zeit öfter geschüttelt. Bei einigen Versuchen erhielt man die gleichen Resultate, ob man 6 Stunden oder über Nacht extrahierte. Gleichwohl ist letzteres Verfahren nicht zu empfehlen, da bei solanger Einwirkungsdauer störende Einflüsse nicht ausgeschlossen sind.

Der Auszug wird klar filtriert und das Filtrat unverdünnt zum Versuch benützt.

Bei Grünmalzen verwendet man 2, bei hellen 4, bei dunklen Malzen 8 ccm Auszug zur Verzuckerung.

B. Bereitung der Stärkelösung.

Man bereitet sich nach Lintner eine 2%ige Stärkelösung, indem man lufttrockene, lösliche Kartoffelstärke[1]) (abgewogen auf

[1]) Die Herstellung derselben Seite 23.

wasserfreier Stärke) mit kaltem Wasser in einer Reibschale fein verreibt und die aufgeschlemmte Masse in einen Nickelbecher mit kochendem Wasser giesst, aufkochen lässt und die abgekühlte Lösung auf das gewünschte Volumen auffüllt.

C. Gang der Untersuchung.

100 ccm der 2%igen Stärkelösung werden in ein 150 ccm Kölbchen gebracht und bei 20° C (Zimmertemperatur) mit den oben angegebenen Mengen Malzauszug versetzt. Nach genau $^1/_2$ stündiger Einwirkungsdauer wird die Reaktion durch 10 ccm $\frac{n}{10}$ Natronlauge unterbrochen, auf 150 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt und gut durchgeschüttelt.

Die Maltose wird folgendermassen bestimmt:

a) Vorversuch.

5 ccm Fehling'sche Lösung (Kupfersulfat und Seignettesalz-Natronlauge nach Wein bereitet) werden in einem Rundkölbchen zum Kochen gebracht und zu dieser aus einer Bürette von der maltosehaltigen Lösung allmählich unter stetem Schütteln und Kochen bis zum Verschwinden der Blaufärbung zufliessen lassen. Den Endpunkt der Reaktion ermittelt man mit dem von A. R. Ling empfohlenen Rhodaneisenindikator. Derselbe wird bereitet, indem man 1,5 gr Rhodanammonium und 1,0 gr Ferroammoniumsulfat in 2,5 ccm konz. Salzsäure und 10 ccm destill. Wasser löst. Die auftretende Rotfärbung im Indikator wird durch Zugabe von geringen Mengen Zinkstaub beseitigt. Die entfärbte Lösung wird in kleinen Kölbchen, die mit Bunsen'schen Ventilen verschlossen sind, aufbewahrt und kann 3—4 Tage zu Versuchen verwendet werden.

Von dem Indikator bringt man auf eine Porzellanplatte mit Vertiefungen eine Anzahl kleiner Tropfen, zu denen man je einen Tropfen der Reduktionsflüssigkeit fallen lässt. Solange noch eine deutliche Rotfärbung eintritt, ist noch Fehling'sche Lösung vorhanden.

Auf Grund der Vortitration liest man die Anzahl Kubikcentimeter Zuckerlösung an der Bürette ab und berechnet die für 5 ccm maltosehaltiger Lösung nötige Menge Fehling'scher Lösung.

So erfährt man annähernd die 5 ccm Zuckerlösung entsprechenden Kubikcentimeter Fehling'scher Lösung. Im Hauptversuch wird man dieselben genauer bestimmen.

In Fällen, wo keine grosse Genauigkeit erforderlich ist, wird man sich mit dem Vorversuch begnügen können.

b) Hauptversuch.

In je 6 Reagenscylinder, die sich in einem Reischauer'schen Stern befinden, werden je 5 ccm der zu prüfenden, verzuckerten Stärkelösung pipettiert. Zu diesen werden die entsprechenden Mengen Fehling'scher Lösung zugesetzt und zwar derart, dass das 3. Röhrchen mit der berechneten Menge Fehling, Röhrchen 2 mit einer um 0,05 ccm geringeren Menge, Röhrchen 1 mit einem Unterschied von 0,1 ccm, Röhrchen 4, 5 u. 6 mit um je 0,05 ccm ansteigenden Mengen Fehling'scher Lösung beschickt werden. Das Abmessen der Zucker- und der Fehling'schen Lösung geschieht mit Kruis'schen Pipetten.

Die beschickten Gläschen werden gut durchgeschüttelt, in den Stern der Reihe nach zurückgestellt und in ein Wasserbad von ca. 70° gebracht. Das Bad wird zum Sieden erhitzt. Nach 5—10 Minuten ist die Reduktion vollendet. Durch den Beginn derselben bei 70° erzielt man einen pulverigen Niederschlag von Kupferoxydul, die Lösung wird sofort klar und zum Ablesen sehr geeignet. Ausserdem erreicht man eine raschere Beendigung der Reaktion als früher, wo man den Stern in ein kochendes Wasserbad brachte. Man bekam meistens eine langsam sich absetzende Fällung, die das Ablesen erst nach einiger Zeit gestattete.

Der Stern zeigt sowohl blaue als gelbe Röhrchen, der Uebergang zwischen beiden, das nahezu farblose Röhrchen, ist das gesuchte. Sicher kann man sich überzeugen, indem man in den fraglichen Röhrchen mit Essigsäure und Ferrocyankalium auf Kupfer prüft.

Ist die Menge Fehling'scher Lösung ermittelt, so kann die dieser entsprechende Maltosemenge in No. XIII der Wein'schen Tabelle aufgeschlagen werden.

Das Fermentativvermögen (Verzuckerungskraft) soll nun ausgedrückt werden durch Gramm Maltose, welche 100 gr Malz geliefert haben.

Bei 2 ccm Malzauszug (Grünmalz) berechnet sich das Fermentativvermögen, indem man den für 5 ccm der Zuckerlösung gefundenen, der Wein'schen Tabelle entnommenen Maltosewert auf Gramme erhöht und mit 30 multipliziert, bei 4 ccm Auszug (hellem Malz) mit 15, bei 8 ccm (dunklem) Malz mit 7,5.

Nach diesem Verfahren hatten die in dieser Arbeit untersuchten hellen Malze eine verzuckernde Kraft von 159—343 und die dunklen eine solche von 67,7—121,6.

Beispiel: Helles Malz vom Wassergehalt 6,48%.

Der Vorversuch hat zur Reduktion von 5 ccm Fehling'scher Lösung 13,2 ccm Zuckerlösung ergeben.

5 ccm Zuckerlösung entsprechen: $\frac{25}{13,2} = 1,89$ ccm Fehling'scher Lösung.

Hauptversuch:

Röhrchen I: 1,80 ccm Fehling'scher Lösung.
„ II: 1,85 „ „ „
„ III: 1,90 „ „ „
„ IV: 1,95 „ „ „
„ V: 2,00 „ „ „
„ VI: 2,05 „ „ „

Gefunden 2,00 ccm Fehling'sche Lösung = 14,46 mgr Maltose
Fr = 15×14,46 = 216,9 gr Maltose (auf lufttr. Malz)

Fr_t[1]) $= \frac{100 \times 216,9}{93,52} = 231,9$ gr Maltose (auf Malztrockensubstanz).

Bestimmung des Verzuckerungsvermögens von hellen und dunklen Malzen nach obiger Methode.

Helle Malze.

Wasser	Verzuckerungskraft Fr	
	Berechnet auf lufttrockenes Malz	Berechnet auf Malztrockensubst.
6,48%	216,9	231,9
7,16%	216,9	234,1
5,24%	146,7	154,8
5,26%	184,2	194,4
7,34%	211,4	228,1
6,79%	206	220,9
8,39%	222,3	242,6
8,23%	316,2	343,3
7,75%	146,7	159

[1]) Fr_t = Verzuckerungsvermögen auf Malztrockensubstanz berechnet.

Dunkle Malze.

Wasser	Verzuckerungskraft Fr	
	Berechnet auf lufttrockenes Malz	Berechnet auf Trockensubstanz
6,37%	113,9	121,6
6,92%	85,12	91,4
3,73%	89,4	92,9
4,69%	84,1	88,4
6,88%	68	73
7,18%	65,3	70,4
6,76%	63,2	67,7
6,75%	78	83,6
7,64%	83,6	90,5
7,02%	68,6	73,7

XI.

Vergleichende Versuche über die Bestimmung des Fermentativvermögens nach der Methode Lintner und der auf Seite 40 ff. beschriebenen.

Die verschiedenen Methoden zur Bestimmung des Fermentativvermögens geben wenig vergleichbare Resultate, es hängt dies mit der Einwirkungsdauer, -temperatur, Menge des Auszuges, Wahl des Substrates, Einfluss gewisser, indifferenter Bestandteile des Malzes bei höherer Temperatur und dem Grade der Verzuckerung zusammen. Lintners Methode (Zeitschrift für das ges. Brauwesen, 1885, S. 283 u. 1886 S. 475) entspricht ambesten den Verhältnissen in obigem Verfahren, indem Lintner bei gewöhnlicher Temperatur und bei gleicher Konzentration der Verzuckerungsflüssigkeit arbeitet. Nach Anordnung des Versuches ist ebenso wie bei der oben beschriebenen Methode ein Ueberschreiten der Proportionalitätsgrenze für gewöhnlich ausgeschlossen.

Ein Unterschied in den beiden Methoden ist in der Dauer der Einwirkung der Diastase auf die Stärkelösung zu finden. Nach früheren Versuchen (S. 28) ist bereits nach einstündiger Einwirkungsdauer eine Abnahme der Diastasewirkung konstatiert worden. Es war dies der Grund, die Einwirkungszeit in der neuen Methode auf 30 Minuten zu verringern. Das Fermentativvermögen Lintner dürfte also nach obigem Befund nicht dem doppelten Maltosewert

bei $^1/_2$ stündiger Einwirkung gleichkommen. Dies ist auch tatsächlich der Fall.

Ausführung der Versuche:

Es wurden 2 helle und 3 dunkle Malze nach beiden Methoden auf ihre diastatische Wirksamkeit geprüft und die Resultate auf Grade Lintner und auf 100 gr Malztrockensubstanz berechnet. Diesen Bestimmungen gingen die Wasserbestimmungen der Malze voraus.

Um die gefundenen Werte bei der Lintner'schen Methode auf Malz umzurechnen, müssen sie mit dem Faktor 0,07364 multipliziert werden, man erhält dann die durch 1 gr Malz gebildete Maltosemenge.

Rechnerisch kam man folgendermassen zu diesem Faktor:

Einem Fermentativvermögen von 100° L entspricht 0,1 ccm Malzauszug 1 : 20

20 ccm Auszug werden aus 1 gr Malz erhalten,
0,1 „ „ „ „ 0,005 gr „ „
5 mgr Malz reduzieren 5 ccm Fehling = 36,82 mgr Maltose
1 gr Malz erzeugt bei einer diastatischen Wirksamkeit 100
7,364 gr Maltose,
1° L = 0,07364 gr Maltose.

Setzt man den nach dem neuen Verfahren gefundenen Wert = 1, so erhält man den Faktor, mit dem letzterer Wert multipliziert werden muss, um den Wert Lintner zu erhalten. Die Versuche haben gezeigt, dass der Faktor variiert und zwar derart, dass die Differenzen in den Maltosewerten nicht von den Versuchsfehlern herrühren können, sondern die verschiedenen Einwirkungszeiten die Fehler bedingen. Es ist zu ersehen, dass der Faktor nie die Zahl 2 erreicht, eine weitere Bestätigung für die eingangs dieser Versuchsreihe erwähnte Tatsache, dass die Maltosemengen auch bei gewöhnlicher Temperatur nicht proportional den Zeiten zunehmen.

Helle Malze.

Wasser-Gehalt	Fermentativvermögen L		Maltosezahl		Faktor
	Auf lufttrock. Malz	Auf Malztrockensubst.	Nach Lintner	Nach der neuen Methode	
6,48%	46,89° L	50,14° L	369,7	231,9	1,6
6,79%	42,3° L	45,38° L	333,8	220,9	1,5

Dunkle Malze.

Wasser-Gehalt	Fermentativvermögen L		Maltosezahl		Faktor
	Aufluftttrock. Malz	Malztrocken-substanz	Nach Lintner	Nach der neuen Methode	
6,92%	18,52° L	19,89° L	146,5	91,4	1,6
6,76%	16,66° L	17,8° L	131,6	67,7	1,9
7,64%	18,52° L	20,05° L	147,7	90,5	1,6

Die Zahlenergebnisse zeigen, dass ein Vergleich zwischen Methode Lintner und der neuen Methode streng genommen nicht zulässig ist. Die Differenzen nehmen mit dem Fermentativvermögen zu und bedingen bei den hellen Malzen schon beträchtliche Zahlenunterschiede, bei dunklen Malzen mit niedriger diastatischer Kraft treten die Unterschiede nicht so in die Erscheinung, eine Umrechnung dieser Werte von der einen auf die andere Methode liefert annähernde Resultate.

Malzextrakte.

In einer Abhandlung „Ueber Diastasebestimmungen in Diastase-Malzextrakten“ von Dr. F. Söldner (Aus dem chem. Laboratorium der Löflund'schen Fabrik, Pharmaceut. Ztg. 1889, Nr. 65 u. 66) finden wir eine Kritik der von Jougk (The pharm. Journal 1883 p. 105) und von Dunstan und Dummock (Hager Handbuch der pharm. Praxis Ergänz. Band p. 696) beschriebenen Fermentativkraftbestimmungen von Malzextrakten.

In der Methode von Jougk arbeitet man auf das Verschwinden der Jodreaktion hin, während man bei der zweiten, wo auf konstante Stärkemengen wachsende Mengen Diastaselösung einwirken, der Endpunkt der Reaktion angenommen wird, wenn mit Jod in der Versuchsflüssigkeit eine Violettfärbung eintritt. Erstere Methode kann, da bei dem Verschwinden der Jodreaktion die Proportionalitätsgrenze bereits überschritten ist, nur äusserst ungenaue Resultate für den Wirkungswert der Diastase geben. (Lintner, Journal für prakt. Chemie N. F. 35, 380.)

Die zweite Methode bewegt sich, wie Söldner beweist, noch in den Grenzen des Proportionalitätsgesetzes, sie liefert aber, da die violette Färbung der Versuchsflüssigkeit mit Jod von verschiedenen Faktoren abhängig ist, nur annähernd richtige Werte für den Vergleich der diastatischen Wirkung zweier Diastasemalzextrakte.

Von den Methoden, welche die durch die Diastase gebildeten Maltosemengen durch Reduktion bestimmen, ist nach Söldner die

von Lintner (Z. f. d. g. Brw. 1886, S. 475) die ammeisten angewandte.

Der Zuckergehalt im Extrakt muss bei der Bestimmung berücksichtigt werden. Waren nach einem Versuche a ccm Auszug 1 : 20 nötig, um so viel Maltose zu erzeugen, dass durch dieselbe 5 ccm Fehling reduciert wurden, so wird der 2. Versuch so ausgeführt, dass das Röhrchen I mit a ccm Auszug 1 : 20, die übrigen mit absteigenden Mengen Auszug beschickt und während 1 Stunde bei 17°—18° C gehalten werden. Dann gibt man in jedes Röhrchen 5 ccm Fehling, schüttelt gut durch und reduciert während 10 Minuten in einem kochenden Wasserbade. Das farblose Röhrchen ist wieder das gesuchte, es enthält b ccm Auszug.

Die 5 ccm Fehling reducierende Maltosemenge setzt sich zusammen aus der in b ccm Extrakt bereits vorhandenen Maltose und der durch b ccm in der 2prozentigen Stärkelösung erzeugten Maltosemenge. Es ist deshalb nötig, diejenige Menge Auszug zu ermitteln, die imstande ist, so viel Maltose während einer Stunde in 10 ccm 2prozentiger Stärkelösung zu erzeugen, dass eben 5 ccm Fehling'sche Lösung reduciert werden, um das Fermentativvermögen nach Lintner bestimmen zu können. Diese Menge kann durch Rechnung gefunden werden.

$$X = \frac{5\,b}{5 - \frac{5\,b}{a}} = \frac{a \cdot b}{a - b} \text{ ccm Extrakt.}$$

$$Fr = \frac{50\,(a - b)}{p \cdot a \cdot b.}$$

p = procentischer Gehalt an Extrakt in der geprüften Lösung. Will man den Diastasegehalt in Grammen ausdrücken, so sind die gefundenen Werte in folgende Formel einzusetzen:

$$\text{Diastase} = \frac{1{,}2\,(a - b)}{p \cdot a \cdot b.}$$

Nach Söldner ist diese Methode der Fermentativbestimmung von Malzextrakten eine empfehlenswerte.

In neuerer Zeit hat auch eine von v. Egloffstein ausgearbeitete Methode (Z. f. d. g. Brw. XXVI. Jahrgang, No. 21) zur Bestimmung der diastatischen Kraft von Malzextrakten Eingang gefunden. Nach den Angaben aus dem Laboratorium der deutschen Diamaltgesellschaft m. b. H. in München wird die Methode folgendermassen ausgeführt:

9 gr Arrowrootstärke werden mit ca. 20 ccm kaltem Wasser verrieben, dann in 250 ccm Wasser eingetragen und während einer

halben Stunde in einem kochenden Wasserbade bei der Siedetemperatur gehalten. Der Kleister wird auf gewöhnliche Temperatur abgekühlt, in ein 300 ccm Kölbchen gegeben und dieses zur Marke aufgefüllt. 50 ccm dieses Kleisters werden bei 37,5° C mit 20 ccm 2%iger Diastaselösung, die durch Lösung von 6 gr des diastatischen Produktes in 300 ccm Wasser erhalten wird, verzuckert. Nach ungefähr 10 Minuten beginnt man mit Jod auf Stärke zu prüfen. Nach dem Verschwinden der Jodreaktion, resp. bis zum Auftreten einer rein gelbbraunen Farbe, wird die Zeit, die dieser Versuch in Anspruch genommen hat, an einem Chronometer abgelesen. Die doppelte Menge 2%igen Auszuges als die Zeit in Minuten angibt, wird zur Verzuckerung benützt.

Zu diesem Behufe werden 250 ccm 3prozentigen Kleisters in einem 300 ccm Kölbchen auf 37,5° C gebracht und die entsprechende Menge Auszug zugesetzt. Nach halbstündiger Einwirkung wird die Diastase mit 3 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH unwirksam gemacht, abgekühlt, auf 300 ccm aufgefüllt und die Maltose titrimetrisch bestimmt.

Zu 25 ccm Fehling lässt man aus einer Bürette die Zuckerlösung zutropfen bis mit Ferrocyankalium und Essigsäure keine Kupferreaktion mehr wahrzunehmen ist Da man weiss, dass 25 ccm Fehling durch 0,193 gr Maltose reduciert werden, ist die Maltose in den an der Bürette abzulesenden Kubikcentimetern Verzuckerungsflüssigkeit gegeben.

Da man ferner die Menge Diamalt in Grammen kennt, die zur Verzuckerung benutzt wurden, kann man die durch ein Gramm Diamalt erzeugte Zuckermenge und hiermit auch das Verzuckerungsvermögen berechnen. Von der Gesamtmaltose ist auch der präexistierende Zucker, der durch eine Maltosebestimmung im Extrakte gefunden wird, abzuziehen. Die gefundene Zahl in Grammen wird mit 1000 multipliziert. —

Man durfte annehmen, dass diastatische Malzextrakte, welche durch Maischen erhalten wurden, sich ähnlich verhalten würden wie wässerige, bei gewöhnlicher Temperatur bereitete Malzauszüge d. h. dass sie ebenfalls Nebenbestandteile enthalten, welche bei höherer Temperatur die Diastasewirkung begünstigen würden. Nachstehende Versuche haben diese Annahme bestätigt:

Die Diamaltlösung wurde bereitet, indem man 5 gr genau abgewogenes Diamalt in ein 100 ccm Kölbchen spülte und dasselbe bis zur Marke auffüllte.

Auf 100 ccm 2prozentiger Stärkelösung, die in einem 150 ccm Kölbchen sich befanden, wirkten verschiedene Mengen Auszug bei

40° während 30 Minuten ein. Nach Verlauf dieser Zeit wurde die Einwirkung der Diastase durch 10 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH unterbrochen, die Lösung auf 17,5° C abgekühlt, auf 150 ccm aufgefüllt, gut durchgeschüttelt und der Zucker bestimmt. Die durch die Maltosebestimmung ermittelte Zuckermenge in 5 ccm liess uns auf die in 150 ccm enthaltene schliessen. Eine einfache Proportion von Maltose und Auszugsmenge ergab uns die durch ein Gramm Diamalt während 30 Minuten bei 40° erzeugte Maltose. Ausserdem wurde noch eine Maltosebestimmung im Diamaltauszug ausgeführt.

Zur Maltosebestimmung wurden 10 ccm der ursprünglichen Diamaltlösung 1 : 20 in ein 100 ccm Kölbchen gegeben und auf 100 ccm verdünnt. Aus diesem Kölbchen wurde in 6 in einem Reischauer-Stern befindlichen Röhrchen je 5 ccm des Auszuges pipettiert, und die durch den Vorversuch gefundenen Mengen Fehling'scher Lösung zugegeben. Nach der Reduktion in einem kochenden Wasserbade konnten die gesuchten Kubikcentimeter Fehling'scher Lösung abgelesen und die diesen entsprechende Maltosemenge nach No. XIII der Wein'schen Tabelle bestimmt werden. Es wurde die in einem Gramm Diamalt enthaltene Maltosemenge berechnet.

5 ccm Zuckerlösung reduzierten 1,84 ccm Fehling'sche Lösung. 1,84 ccm Fehling entsprechen 13,29 mgr Maltose. In 100 ccm Zuckerlösung sind 265,8 mgr Maltose. In 100 ccm sind 0,5 gr Diamalt gelöst. 1 gr Diamalt enthält 0,5316 gr reduzierende Substanz (auf Maltose berechnet). Das zu den Versuchen verwendete Diamalt bestand zu 53,16 Prozent aus Maltose.

Beim ersten Versuch wirkten auf 100 ccm 2%iger Stärkelösung 2 ccm Diamaltlösung 1 : 20 bei 40° während 30 Minuten ein, während im 2. Versuch ausser 2 ccm frischen Auszuges noch 2 ccm von demselben Auszug, in dem die Diastase durch Aufkochen unwirksam gemacht worden war, zugesetzt und unter ganz denselben Bedingungen gearbeitet wurde.

2 ccm

3,629 Gesamtmaltose
— 0,5316 Maltose in 1 gr
3,0974

Fr = 310.

2 ccm frischer + 2 ccm abgetöteter Auszug.

5,697 Gesamtmaltose
— 1,0632
4,6338

Fr = 463.

Die Extractivstoffe des aufgekochten Auszuges haben begünstigend auf die Zuckerbildung eingewirkt. Man kann also allgemein sagen:

Die Diastase wird bei höherer Temperatur in der Wirkung durch die aktivierenden Nebenbestandteile unterstützt, die gefundene diastatische Kraft ist sowohl auf die Wirkung der Diastase als auch auf die im Diamalt vorhandenen Nebenbestandteile zurückzuführen. Da man die Wirkung der Diastase allein wissen will, so muss man wieder auf die gewöhnliche Temperatur zurückgehen, bei welcher die begünstigenden Einflüsse der Nebenbestandteile noch nicht ins Gewicht fallen, d. h. auf 20° C und zwar wird man sich des gleichen Verfahrens bedienen können, das oben zur Bestimmung der Verzuckerungskraft des Malzes empfohlen wurde. Selbstverständlich muss der im Diamalt vorhandene reduzierende Zucker (auf Maltose berechnet) in Abzug gebracht werden. Das lässt sich bei dem vorliegenden Verfahren aber leichter und bequemer durchführen als bei dem von Lintner angegebenen.

Bestimmung. Man lässt 4 ccm Diamaltlösung 1:20 bei 20° C auf 100 ccm 2%ige Stärkelösung, die sich in einem 150 ccm Kölbchen befinden, während 30 Minuten wirken. Nach dieser Zeit wird die Wirkung der Diastase durch 10 ccm $\frac{n}{10}$ Natronlauge unterbrochen, die Lösung bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und der Zucker bestimmt.

Nähere Beschreibung der Methode siehe bei Malz S. 41.

Berechnung der diastatischen Wirksamkeit.

Beispiel:

Untersucht wurde ein Diamalt mit 53,16% Maltose.

In	5 ccm	verzuckerter Stärkelösung sind	13,36	mgr	Maltose
„	150 „	„ „ „	0,4008	gr	„
	4 „	Auszug 1 : 20 geben	0,4008	„	„
		Gesamtmaltose	2,004	„	„
		— Maltose im Extrakt	0,5316	„	„
			1,4724	gr	

Verzuckerungsvermögen Fr = 147,24

Den Gesamtmaltosewert findet man, in dem man den für 5 ccm Zuckerlösung gefundenen, der Wein'schen Tabelle entnommenen Maltosewert auf Gramme erhöht und mit 15 multipliziert.

Zusammenfassung.

1) Versuche, die Bestimmung des Verzuckerungs- und Verflüssigungsvermögens zu kombinieren, haben zu keinem positiven Resultat geführt.

2) Stärkekleister ist bei den Bestimmungen der Verzuckerungskraft, die bei höheren Temperaturen ausgeführt werden, kein geeignetes Substrat. Die Maltosemengen nehmen zwar mit den Auszugsmengen zu, aber viel rascher, als das Kjeldahl'sche Gesetz voraussehen lässt.

3) Die Angreifbarkeit verschiedener, löslicher Stärkesorten durch Diastase wies bei 40° Unterschiede auf. Bei gewöhnl. Temperatur war der Unterschied zwischen Reis- und Kartoffelstärke gering. Am leichtesten verzuckert wurde lösliche Reisstärke, am wenigsten Marantastärke, in der Mitte stand Kartoffelstärke. Da letztere am reinsten zu erhalten ist, ist sie zur diastatischen Kraftbestimmung zu empfehlen.

In der vorliegenden Arbeit wurde sie als „lösliche Kartoffelstärke", wie sie nach Beschreibung in Abschnitt III hergestellt wurde, verwendet.

4) Die Konzentration der Stärkelösung übt bei einer Fermentativbestimmung einen wesentlichen Einfluss auf die Maltosebildung aus.

Die Zuckerproduktion nimmt mit der Konzentration der Stärkelösung zu. Bei 20° C wurde ungefähr um die Hälfte, bei 40° und 55° C fast doppelt so viel Zucker in der 10prozentigen wie in der 2prozentigen Stärkelösung gebildet.

Man blieb bei den 2prozentigen Lösungen, da höherprozentige bei Temperaturen unter 40° C leicht veränderlich sind.

5) Bei Variation der Einwirkungsdauer der Diastase auf 2prozentige Stärkelösungen besteht zwischen angewandter Diastasemenge und Zuckerproduktion schon nach einstündiger Dauer keine Proportionalität mehr:

a) bei gewöhnlicher Temperatur — 20° C — ist die Differenz zwischen gefundener und berechneter Maltosemenge nicht bedeutend.

b) bei höherer Temperatur — 40° und 55° C — treten die Unterschiede erheblich hervor. Wollte man bei höherer Temperatur arbeiten, so müsste man eine sehr kurze Verzuckerungszeit wählen — Kjeldahl 20 Minuten.

6) Bei gewöhnlicher Temperatur soll die Einwirkungsdauer nicht mehr als 30 Minuten betragen.

7) Die Maltosemengen nehmen beim Arbeiten mit 2%igen Stärkelösungen und kleinen Auszugsmengen nicht bis zur Optimaltemperatur der Diastase von 57—63° C zu, wie es bei Kjeldahl, der mit konzentrierten Stärkelösungen arbeitet, der Fall ist.

Bei 40° erzielte man zwar erheblich mehr Maltose als bei 20° C, die Maltosemengen bei 55° C blieben aber oft hinter denen bei 40° C zurück.

Bei Versuchen mit 5%igen Stärkelösungen und grösseren Auszugsmengen konnte man ebenfalls wie Kjeldahl eine Zunahme der Maltosebildung mit steigender Temperatur beobachten.

8) Bei 40° und 55° C haben grössere Mengen von Malzauszügen unverhältnismässig mehr Maltose gebildet als kleinere.

Das Proportionalitätsgesetz gilt also unter den eingehaltenen Bedingungen bei 40° und 55° nicht, wohl aber bei 20°.

9) Höhere Temperaturen eignen sich nicht zu Fermentativkraftbestimmungen, da begünstigende Nebenbestandteile der Malzauszüge die diastatische Wirksamkeit beeinflussen.

Bei gewöhnlicher Temperatur machen sich diese Einflüsse nicht merklich geltend.

10) Die aktivierenden Stoffe der Malzauszüge sind sowohl organischer als anorganischer Natur.

11) Aus den obigen Erfahrungen ergibt sich, dass die Diastase, am wenigsten beeinflusst durch Nebenumstände, bei gewöhnlicher Temperatur — 20° C — ihre Wirkung entfaltet.

12) Bei der Anwendung von 2%igen Stärkelösungen hat bei gewöhnlicher Temperatur das Proportionalitätsgesetz bis zu $R = 35$, auf Maltose berechnet, strenge Giltigkeit, bis zu $R = 48$ gilt es noch annähernd.

13) Unter Berücksichtigung dieser Faktoren wurde eine Methode zur Bestimmung der Verzuckerungskraft ausgearbeitet, die neben genauer Arbeitsweise schnell zum Ziele führt und Wiederholungen von Bestimmungen in der Regel ausschliesst. —